

U. PORTO



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Fábio Daniel Moreira Passos

Valorização de frutos de
***Adansonia digitata* L.: polpa e sementes**

Dissertação do 2^o Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre
em Controlo da Qualidade

Especialidade Água e Alimentos

Orientação:

Professora Doutora Ana Cristina M. F. da Vinha

Professora Doutora M. Beatriz P. P. Oliveira

Setembro 2016

De acordo com a legislação em vigor, não é permitida a reprodução de qualquer parte desta Dissertação/Tese

Agradecimentos

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração e estímulo de várias pessoas, pelo que lhes devo a minha gratidão.

Em primeiro lugar às minhas orientadoras, Prof. Doutora Ana Vinha e Prof. Doutora Beatriz Oliveira, por toda a ajuda e paciência que tiveram comigo ao longo deste projeto.

A todos os colegas que me foram ajudando nas mais diversas tarefas, à Mestre Maria Antónia Nunes, à Mestre Filipa Pimentel e à Mestre Anabela Costa que estiveram sempre presentes no decurso do meu trabalho experimental.

Um agradecimento à Mestre Tânia Albuquerque e à Doutora Helena Soares Costa do INSA (Lisboa), pelo apoio e ajuda.

À minha família e aos meus amigos por me acompanharem e estarem sempre a meu lado durante todo este percurso.

Resumo

A formulação de novos produtos alimentares e farmacêuticos utiliza cada vez mais recursos naturais numa perspetiva sustentável. O fruto da *Adansonia digitata* L. (baobab), uma árvore nativa da savana Africana muito usada na medicina tradicional, tem despertado grande interesse nos investigadores devido às suas propriedades nutricionais e biológicas, que promovem potenciais aplicações nas indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética.

Foram estudadas diferentes partes do baobab (polpa e miolo das sementes) com o intuito de fazer a sua caracterização nutricional, química e bioatividade. Os frutos provenientes de Luanda, Angola foram estudados na sua componente centesimal (humidade, cinzas, proteínas, gordura, fibras dietéticas totais e hidratos de carbono), recorrendo-se também a técnicas cromatográficas e espectrofotométricas para a identificação e quantificação de ácidos gordos, vitamina C, vitamina E e compostos bioativos (fenólicos totais, flavonoides totais, clorofilas e carotenos). Os extratos hidroalcoólicos destas amostras foram estudados sob o ponto de vista bioativo, nomeadamente a atividade antioxidante, recorrendo a dois métodos correntes (DPPH e FRAP).

O valor nutricional da polpa e do miolo das sementes do fruto são significativamente diferentes em todos os parâmetros avaliados. O miolo da semente apresentou teores elevados de proteína (37,6 g/ 100 g) e gordura (35,3 g/ 100 g), enquanto a polpa do fruto apresentou teores elevados de fibras dietéticas (52,0 g/ 100 g) e de hidratos de carbono (37,0 g/ 100 g), com uma contribuição energética baixa (160,0 kcal/ 100 g). Como era de esperar, o miolo da semente é mais rico em ácidos gordos, destacando-se os ácidos oleico e linoleico (39,94 % e 30,49 %, respetivamente). A vitamina E estava presente em teores da ordem de 38,64 mg/ 100 g de gordura (maioritariamente na forma de γ -tocoferol). A vitamina C, potente antioxidante natural, apenas foi observada na polpa do fruto.

A atividade antioxidante mostrou uma correlação positiva com os compostos bioativos, tendo-se observado um valor superior de fenólicos e flavonoides totais na polpa do fruto (117,8 mg EAG/ g e 23,29 mg EC/ g, respetivamente). Em conclusão, os diferentes órgãos do fruto da *A. digitata* mostraram ser um recurso natural interessante quanto ao valor nutricional e químico, podendo integrar-se em diferentes aplicações da indústria, nomeadamente alimentar, farmacêutica ou cosmética, visando sempre o conceito de sustentabilidade.

Palavras-chave: *Adansonia digitata* L., análise nutricional, compostos bioativos, bioatividade.

Abstract

More and more, the chemical characteristics of exotic fruits are being used for the production of new products. The fruit of *Adansonia digitata* L. (baobab), an African native savanna tree, widely used in traditional medicine, arouses interest for its nutritional and biological properties that gives it potential applications in the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

Pulp and seeds from baobab fruit were analyzed for its nutritional value, chemical composition and bioactivity. Proximate analysis (moisture, ash, protein, fat, total dietary fiber and carbohydrates) were determined in fruits purchased in Luanda, Angola. The quantification of fatty acids, vitamin C, vitamin E and bioactive compounds (total phenolics, flavonoids, chlorophylls and carotenes) by chromatographic and spectrophotometric methods were also analysed. The bioactive properties, namely the antioxidant activity were determined in hydroalcoholic extracts using two common methods (DPPH and FRAP).

The nutritional value of fruit pulp and seed kernels were significantly different. Seed kernels presented high protein (37.6 g/ 100 g) and fat (35.3 g/ 100 g) content, while the fruit pulp presented high contents of total dietary fiber (52.0 g/ 100 g) and carbohydrates (37.0 g/ 100 g), with low energetic value (160.0 kcal/ 100 g). As expected, the seed kernel was richer in fatty acids, mainly oleic and linoleic fatty acids (39.94 % and 30.49 % ,respectively) and vitamin E (38.64 mg/ 100 g of fat), mostly as γ -tocopherol. Vitamin C, a strong natural antioxidant, was only found in the fruit pulp.

We observed a positive correlation between the antioxidant activity and the bioactive compounds, with higher values of total phenolics and flavonoids in the fruit pulp (117.8 mg GAE/ g and 23.29 mg CE/ g, respectively).

The findings of this study revealed the potential applications of different parts of *A. digitata* in various industries like food, pharmaceutical or cosmetic, due to its nutritional and chemical values, always taking in account the concept of sustainability.

Keywords: *Adansonia digitata* L., nutritional analysis, bioactive compounds, bioactivity.

Trabalhos apresentados no âmbito deste trabalho:

Comunicação oral:

1. **Fábio Passos**, M. Antónia Nunes, Filipa Pimentel, Anabela S.G. Costa, Ana F. Vinha, M. Beatriz P.P. Oliveira. Baobab fruit: Assessment of seed kernel lipid fraction. 9º Encontro da Investigação Jovem da Universidade do Porto (IJUP), Fevereiro 2016, Porto, Portugal.

Comunicações em forma de Poster:

1. **Fábio Passos**, Anabela S.G. Costa, Ana F. Vinha, M. Beatriz P.P. Oliveira. Nutritional composition of baobab fruit (*Adansonia digitata* L.): pulp and seed kernel. 5º Encontro de Jovens Químicos Portugueses (PYChem) / 1º Encontro de Jovens Químicos Europeus (EYChem), Abril 2016, Guimarães, Portugal.

2. Fábio Passos, **Tânia Gonçalves Albuquerque**, Ana F. Vinha, Anabela S.G. Costa, Helena S. Costa, M. Beatriz P.P. Oliveira. Baobab: uma fonte natural de vitamina C. Congresso de Nutrição e Alimentação da Associação Portuguesa de Nutricionistas, Maio 2016, Porto, Portugal.

3. **Fábio Passos**, Ana F. Vinha, Teresa Moreira, Ana Oliveira, Francisca Rodrigues, Anabela S.G. Costa, M. Beatriz P.P. Oliveira. *Adansonia digitata* fruit pulp extract: a possible valuable ingredient. XIII Encontro de Química dos Alimentos, Setembro 2016, Porto, Portugal.

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Crescimento populacional, segurança alimentar e sustentabilidade.....	2
1.2. <i>Adansonia digitata</i> L.....	3
1.2.1. Polpa do fruto.....	5
1.2.2. Sementes do fruto.....	6
1.3. Compostos fitoquímicos.....	7
1.4. Atividades biológicas.....	9
1.4.1. Atividade antioxidante.....	9
1.4.2. Atividade antimicrobiana.....	10
1.4.3. Outras atividades biológicas.....	10
2. Objetivos.....	12
2.1. Objetivo geral.....	13
2.1.1. Objetivos específicos.....	13
3. Materiais e métodos.....	14
3.1. Reagentes e padrões.....	15
3.2. Amostras.....	16
3.3. Análise centesimal.....	16
3.3.1. Determinação do teor de humidade.....	17
3.3.2. Determinação do teor de cinzas.....	17
3.3.3. Determinação do teor de gordura total.....	17
3.3.4. Determinação do teor de proteína.....	18
3.3.5. Determinação do teor de fibra dietética total.....	18
3.3.6. Determinação do teor de hidratos de carbono.....	19
3.4. Determinação da composição em ácidos gordos.....	19
3.4.1. Derivatização.....	19
3.4.2. Análise cromatográfica.....	20

3.5. Determinação o teor de vitamina C.....	20
3.5.1. Preparação das amostras.....	20
3.5.2. Análise cromatográfica.....	20
3.6. Determinação do teor de vitamina E.....	21
3.6.1. Preparação das amostras.....	21
3.6.2. Análise cromatográfica.....	22
3.7. Determinação do teor de clorofilas e carotenoides.....	22
3.8. Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	23
3.8.1. Preparação dos extratos.....	23
3.8.2. Determinação do teor de fenólicos totais.....	23
3.8.3. Determinação do teor de flavonoides totais.....	24
3.8.4. Determinação da atividade antioxidante.....	25
3.8.4.1. Ensaio da atividade captora de radicais DPPH*.....	25
3.8.4.2. FRAP.....	26
4. Resultados e discussão.....	27
4.1. Análise centesimal.....	28
4.2. Perfil de ácidos gordos.....	31
4.3. Vitamina E.....	34
4.4. Vitamina C da polpa.....	36
4.5. Determinação do teor de clorofilas e carotenoides.....	37
4.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	38
4.6.1. Determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais.....	38
4.6.2. Determinação da atividade antioxidante.....	40
5. Conclusão.....	42
5.1. Perspetivas de trabalho futuro.....	43
6. Referências bibliográficas.....	44

Índice de Figuras

Figura 1 - Morfologia da árvore, fruto e sementes da <i>Adansonia digitata</i> L.....	4
Figura 2 - Polpa e sementes do fruto baobab. a) sementes envoltas em polpa; b) polpa isolada; c) sementes isoladas.....	16
Figura 3 - Curva de calibração do ácido gálgico (mg/ L).....	24
Figura 4 - Curva de calibração da catequina (mg/ L).....	24
Figura 5 - Curva de calibração do sulfato ferroso ($\mu\text{mol/ L}$).....	26
Figura 6 - Cromatograma da análise dos ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) da polpa e do miolo da semente de baobab.....	33
Figura 7 - Cromatograma dos vitâmeros da vitamina E do miolo das sementes de baobab.....	35
Figura 8 - Cromatograma da análise da vitamina C.....	36

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Macronutrientes da polpa e miolo das sementes do fruto do baobab, expressos em g / 100 g de peso seco.....	28
Tabela 2 - Macronutrientes descritos na literatura, referentes à polpa e sementes do baobab.....	29
Tabela 3 - Composição em ácidos gordos do miolo das sementes, expressos em % total de FAME detectados (média ± DP).....	32
Tabela 4 - Valor total de vitamina E e dos diferentes vitâmeros da polpa e do miolo das sementes de baobab.....	34
Tabela 5 - Teor de vitamina C (ácido ascórbico e desidroascórbico) na polpa de baobab.....	36
Tabela 6 - Valores dos pigmentos presentes na polpa e no miolo das sementes de baobab (mg/ g).....	37
Tabela 7 - Teor de fenólicos e flavonóides totais obtidos na polpa e do miolo das sementes do fruto do baobab.	38
Tabela 8 - Atividade antioxidante da polpa e do miolo das sementes de baobab.....	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Crescimento populacional, segurança alimentar e sustentabilidade

De acordo com o mais recente relatório da Organização das Nações Unidas [1], prevê-se que até 2050 a população mundial aumente de 7300 milhões para 9700 milhões (~33 %), e para 11 200 milhões (~53 %) de pessoas em 2100. A maior parte deste crescimento ocorrerá no continente africano, prevendo-se que a população duplique até 2050 e quadruplique até 2100.

Associado a este crescimento populacional está, obrigatoriamente, um aumento das necessidades alimentares. De facto, a fome já afeta uma grande percentagem da população dos países em desenvolvimento, como é o caso de África com 20% da população subnutrida [2]. Tendo em consideração o referido, e acrescentando as alterações climáticas constantes, torna-se imperativo que haja uma valorização dos recursos naturais, de modo a garantir alimento para as gerações futuras, numa perspetiva de sustentabilidade [3,4]. Outros fatores que influenciam a produção de alimentos incluem a industrialização e a globalização da agricultura, o processamento dos alimentos e a mudança dos padrões alimentares, entre outros [5]. Por outro lado, todos os anos são desperdiçados cerca de 1,3 mil milhões de toneladas de alimentos e subprodutos dos mesmos, equivalendo a 1/3 da produção global [6].

Face ao exposto, surge o conceito de sustentabilidade, definido como a “capacidade de suprir as necessidades do presente, sem comprometer a capacidade das gerações futuras de satisfazer as suas próprias necessidades” [7,8]. Este conceito também abrange a vertente económica mundial, com os processos sustentáveis a repercutir-se numa redução de custos e no aumento da receita, recorrendo ao aproveitamento de subprodutos reutilizáveis [9]. Por esta ordem de pensamento, serão necessários maiores esforços, tanto pelas indústrias como pela comunidade científica, no sentido de desenvolver novos alimentos sustentáveis, ou recorrer aos alimentos pouco valorizados, cujas composições nutricionais garantam a nutrição e a saúde da população [4].

Por outro lado, a constante procura de alimentos naturais e sustentáveis incrementa a “Segurança Alimentar”, muitas das vezes utilizada de forma imprecisa. A Organização Mundial de Saúde (OMS) referiu em 2004 que “Food Security” é por vezes confundida com “Food Safety”, porque as palavras *security* e *safety* podem ser sinónimas em muitas línguas. Em linhas muito gerais, “Food Safety”, pode ser definido como “garantia que um alimento não causará dano ao consumidor, através de perigos físicos, químicos ou biológicos, quando é preparado e consumido de acordo com o uso

esperado", enquanto "Food Security" pressupõe acesso a géneros alimentícios suficientes, seguros e nutritivos capazes de satisfazerem as necessidades nutricionais e preferências alimentares para uma vida ativa e saudável [10,11].

Assim, um dos maiores desafios destas últimas décadas visa a valorização de produtos naturais subvalorizados, reconhecidos pela sua riqueza nutricional e fitoquímica, os quais podem vir a ser integrados na alimentação, bem como nas áreas da farmácia e cosmética [12-14]. Estes produtos naturais, incluindo frutas exóticas, podem servir como ingredientes para alimentos funcionais, caracterizados como alimentos integrais, fortificados, enriquecidos ou melhorados, capazes de promover a saúde, além de fornecerem nutrientes essenciais [15,16].

Nesse sentido, este estudo foca-se no fruto da *Adansonia digitata* L., espécie endémica de África, em particular na avaliação nutricional e composição química da polpa e do miolo das sementes, numa perspetiva de valorização e aplicação futura nas áreas alimentares, farmacêuticas e cosméticas.

1.2. *Adansonia digitata* L.

O continente africano é reconhecido por possuir uma abundante flora nativa e endógena, constituída por plantas ricas em compostos bioativos, e cujo potencial agronómico e comercial ainda é pouco valorizado pela sociedade ocidental, por desconhecimento das suas propriedades físico-químicas e farmacológicas [17,18].

A *A. digitata* é uma árvore decídua pertencente à família das Malvaceae (Bombacoideae), género *Adansonia*, encontrada em regiões áridas ou semi-áridas, principalmente em África, Madagáscar e Austrália [19]. A sua designação foi atribuída por Linnaeus, em homenagem a Michel Andason, que descreveu esta árvore durante uma visita efetuada ao Senegal. O género *Adansonia* engloba 8 espécies, encontrando-se 7 no continente africano, 6 restritas à ilha de Madagáscar e uma na Austrália [20].

Pela sua morfologia característica, esta árvore é conhecida por diversos nomes, sendo o mais comum baobab. Muitos outros nomes são atribuídos, entre os quais, mucua, árvore do macaco-pão, árvore do rato morto, árvore da limonada e árvore de mil anos. [21-25].

A *A. digitata* L. (Figura 1) é uma espécie endémica do continente Africano. Esta árvore é caracterizada pelo seu grande porte, podendo atingir uma altura de 25 metros

[26]. A copa é redonda, os ramos podem surgir bem distribuídos ao longo do tronco ou limitar-se apenas ao topo. O tronco é robusto, podendo apresentar entre 10 e 28 metros de diâmetro [27]. Os frutos apresentam formato variável, podendo assumir uma forma ovóide e cilíndrica [20,27]. O fruto está contido numa cápsula resistente, o epicarpo, que pode variar entre 7,5 e 54 cm de comprimento e até 40 cm de diâmetro. No seu interior, a polpa está dividida em pequenos aglomerados que contêm sementes e filamentos (fibras) que dividem a polpa em segmentos diferentes [28,19]. As sementes apresentam a forma de rins, envolvidas pela polpa do fruto [20]. As folhas são digitatas (no formato de uma mão aberta) e divididas entre 5 a 9 folhetos semelhantes a dedos, podendo o seu tamanho chegar aos 20 cm de diâmetro quando adultas [29]. As flores são brancas, grandes e pendentes, florescendo durante a noite [19]. A propagação é basicamente realizada por sementes. Depois de esmagar a concha lenhosa do fruto (casca), as sementes podem ser extraídas da polpa seca e ácida.

Para os nativos o baobab é a “árvore da vida”, não só pela sua aplicação na medicina tradicional como pelo contributo que a mesma dá como alimento, uma vez que é completamente edível [17,30].



Figura 1. Morfologia da árvore, fruto e sementes da *Adansonia digitata* L.

A maioria das plantas selvagens de África, tal como a *A. digitata*, não têm zonas de proteção/ conservação nem plantações [31-33]. Desta forma, de modo a promover uma futura produção sustentável do baobab, tanto a nível da comercialização como da exportação, será imperativo efetuar uma "domesticação" e criação de plantações para esta árvore.

Considerando que a caracterização das propriedades físico-químicas de um fruto fornece informações importantes para a sua valorização, este trabalho visou analisar o fruto do baobab, em concreto a polpa e as sementes do mesmo.

1.2.1. Polpa do fruto

A polpa do fruto do baobab é a parte edível mais consumida pela população local. Em vários países de África, a polpa é utilizada como ingrediente para o fabrico de molhos, papas, sopas e bebidas [26,27,34]. No Sudão, a polpa pode ser ingerida fresca ou processada, como compota. A polpa seca pode ser adicionada ao leite para aumentar a consistência e para aumentar o aporte nutricional do mesmo, devido à sua riqueza em potássio, cálcio e magnésio [28,35,36]. O teor elevado de cálcio na polpa do fruto, torna o baobab uma fonte natural suplementar de cálcio para mulheres grávidas ou em amamentação, bem como para as crianças e adultos em geral [34]. Recentemente, o baobab foi considerado uma "superfruta" baseado no seu perfil nutricional (p.e. vitaminas, ácidos gordos, fibras e minerais) [37].

Face ao exposto, a Comissão Europeia autorizou a importação da polpa do baobab como um novo alimento [38], após ter sido reconhecido como ingrediente alimentar pela Food and Drug Administration (FDA) em 2009 [39]. Num contexto de sustentabilidade, a comercialização do baobab pode melhorar o crescimento económico das áreas rurais de África [40,41].

Para além do teor em minerais, a polpa contém mucilagem, pectinas, ácido tartárico e vitaminas A, C e do complexo B [19]. Segundo Brady (2011) [28], o teor de pectinas pode chegar aos 50%, o que realça a sua possível aplicação como agente espessante para a indústria alimentar e farmacêutica [42]. Outros estudos destacam o elevado teor de fibras (~44 %) [34,43], as quais desempenham um papel importante na fisiologia do sistema digestivo, reduzindo o risco de neoplasias (como o cancro do cólon), obesidade e diarreias.

Para além destes constituintes, a polpa é reconhecida pelos seus elevados teores em ácido ascórbico [19,44,45]. Segundo Vertuani *et al.* (2002) [46], os níveis de vitamina C podem variar entre 150 e 499 mg/ 100 g, significativamente superiores aos descritos na laranja (~51 mg/ 100 g) [47], kiwi (~55 – 91 mg/ 100 g) [48] e morango (~50 mg/ 100 g) [49], e semelhante aos da acerola (~400 mg/ 100 g) [50].

De facto, o ácido ascórbico tem um papel importante no metabolismo humano para a síntese de colagénio, assim como funções no músculo, pele e outros tecidos. A vitamina C é também importante para a síntese de hormonas, neurotransmissores e no metabolismo de certos aminoácidos e vitaminas. Por outro lado, é reconhecida a sua ação antioxidante, reagindo com a histamina e com peróxidos para a redução dos sintomas inflamatórios e proteção da vitamina E.

A vitamina A também já foi descrita tanto na polpa como nas sementes, apresentando teores médios idênticos (~30 ng/ g) [51]. No entanto, alguns autores dão mais importância ao teor de aminoácidos deste fruto, contendo elevadas quantidades de ácido aspártico, ácido glutâmico e arginina e teores baixos de aminoácidos sulfurados [52,53].

Pelo referido, o consumo da polpa de *A. digitata* pode ter um papel importante na prevenção de doenças nestas populações. Além disto, o interesse em encontrar novas fontes alimentares com benefícios para a saúde pode ser uma excelente oportunidade para melhorar a saúde pública, através do consumo de partes de baobab.

1.2.2. Sementes do fruto

Tal como a polpa, as sementes do fruto do baobab são edíveis e são igualmente utilizadas pela população local. Cita-se o seu uso como agente espessante em sopas, e, quando fermentadas e torradas, podem ser consumidas como *snacks* ou usadas como bebidas, em substituição do café [26,54,55]. O miolo das sementes, também conhecido como pão de macaco, é fermentado para aumentar a digestibilidade das proteínas [56] e para reduzir a atividade da inibição da tripsina [57].

A nível nutricional, as sementes apresentam um valor energético de ~1803 kJ/ 100 g [57]. Estão descritos teores elevados de proteína (~34 %), gordura (~31 %) e fibras (~17 %), e baixas quantidades de hidratos de carbono e cinzas (~5 % e 6 %, respetivamente) [22,51,58,59]. Tal como na polpa, a semente é uma fonte rica de minerais (Ca, Mg e K) [19,36,55].

Segundo diversos autores, os aminoácidos presentes nas sementes são mais relevantes do que na polpa [36,56,58]. Tal como foi já referido, o teor de proteína é elevado (~34 %), significando que o perfil de aminoácidos essenciais também é superior. Para além da arginina, leucina e valina, a semente contém maioritariamente lisina, a qual está minoritariamente presente nos cereais [36].

Devido ao elevado teor de gordura, o óleo das sementes tem recebido particular atenção por parte da comunidade científica, nomeadamente na área da farmácia e da cosmética, devido às suas propriedades terapêuticas em doenças cutâneas [20,60]. No óleo das sementes também estão descritas as vitaminas A e C [61], vitamina E [62] e vitamina D₃ [63], todas elas importantes na prevenção do envelhecimento, promovendo a regeneração celular. Sabe-se que os óleos vegetais são fontes naturais ricas em ácidos gordos mono e polinsaturados. Segundo alguns autores, o óleo da semente do fruto do baobab é composto por ~32 % de ácidos gordos saturados, ~37 % de monoinsaturados e ~32 % de polinsaturados, sendo o ácido oleico o maioritário (35,8 %), seguido dos ácidos linoleico e palmítico (30,7 % e 24,2 %, respetivamente) [36,56,58,64].

1.3. Compostos fitoquímicos

Os metabolitos secundários, conhecidos como fitoquímicos, são substâncias produzidas pelas plantas, capazes de conferirem propriedades protetoras e organoléticas às mesmas, mas cujos benefícios para a saúde humana são mais que evidentes [65,66]. Nos últimos anos, uma maior atenção tem sido dada às propriedades biológicas desses compostos. Vários estudos epidemiológicos indicaram que a ingestão de produtos vegetais (frutas e legumes) está associada com a redução do risco de várias doenças crónicas [67]. Estes efeitos têm sido particularmente atribuídos aos compostos que possuem atividade antioxidante. Os principais antioxidantes presentes nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos.

O stress oxidativo, causado pelo desequilíbrio entre o sistema antioxidante e a produção de compostos oxidantes (radicais livres) está, aparentemente, relacionado com o aparecimento de diversas doenças de cunho multifatorial, especialmente processos inflamatórios, diferentes tipos de neoplasias e doenças cardiovasculares [68].

Os principais compostos bioativos descritos na *A. digitata* L. incluem os ácidos fenólicos (hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos), flavonoides e proantocianidinas

[18,28,35,69,70,71]. Ainda que em menor escala, os carotenoides, também, já foram descritos [28].

Os ácidos fenólicos e os flavonoides são as classes de compostos mais descritas na *A. digitata* L. [65,72,73], os quais estão associados a diversas atividades biológicas como anticarcinogénica, antimutagénica, anti-inflamatória, antibacteriana, citotóxica, hepatoprotetora, quimiopreventiva, antioxidante e cardioprotetora [67,74,75]. As proantocianidinas, oligómeros e polímeros de 3-flavanóis, também estão descritas principalmente como antioxidantes e agentes inibidores da agregação plaquetária [76].

Vários fatores podem influenciar o teor de compostos fenólicos, incluindo condições ambientais [77], espécies, origem botânica geográfica [78], temperatura [79] e condições do solo [80]. Além destes, diversos fatores experimentais podem influenciar a qualidade da extração dos compostos bioativos nas diversas matrizes. Estes fatores incluem o processo de extração utilizado, o tipo de solvente [13,81], tempo de extração [13,82], temperatura e pH [83], número de repetições da extração e rácio entre solvente e amostra [84,85].

Dos diferentes estudos já realizados à polpa do fruto, ao óleo da semente e à raiz do baobab, foram descritos terpenoides, flavonoides, esteroides e vitaminas [86]. Cisse *et al.* (2009) [87] identificaram por GC-MS 10 compostos aromáticos, entre eles o miristato de isopropilo (comumente usado na cosmética) e o nonanal, usado em perfumes. Alguns dos outros compostos isolados incluem a (-) epicatequina, epicatequina-(4 β →8)-epicatequina, epicatequina-(4 β →6)-epicatequina, epicatequina-(2 β →O→7, 4 β →8)-epicatequina e epicatequina-(4 β →8)-epicatequina-(4 β →8)-epicatequina [23]. Segundo Lee *et al.* (2003) [88], a epicatequina é um forte antioxidante, capaz de aumentar a produção de novas mitocôndrias do coração e músculo (denominado "biogénese mitocondrial") enquanto, simultaneamente, estimula a regeneração do tecido muscular.

Shukla *et al.* (2001) [89] isolaram a 3,7-di-hidroxi-flavon-4-ona-5-O- β -D-galactopiranosil (1→4)- β -D-glucopiranosido,3,3',4'-tri-hidroxi-flavon-4-ona-7-O- α -L-ramnopiranosido e quercetina-7-O- β -D-xilopiranosido das raízes de *A. digitata*. Já no óleo das sementes, Kamatou *et al.* (2011) [42] identificaram o campesterol, colesterol, isofucosterol, β -sitosterol, estigmasterol e tocoferóis. Embora estes estudos reportem alguns dos compostos bioativos presentes nos diferentes órgãos do baobab, mais estudos são sugeridos, no sentido de efetuar uma análise detalhada do perfil fenólico de cada espécie, de forma a potenciar possíveis futuras aplicações nas áreas alimentar, farmacêutica e cosmética.

1.4. Atividades biológicas

1.4.1. Atividade antioxidante

Os métodos para avaliar o comportamento antioxidante podem ser agrupados em duas categorias, que refletem a importância da atividade antioxidante nos alimentos ou a bioatividade em humanos. No caso dos sistemas alimentares, a necessidade consiste em avaliar a eficácia dos antioxidantes em fornecer uma maior proteção contra a deterioração oxidativa. No entanto, é na sua bioatividade a nível do metabolismo humano que recai o maior interesse por estes compostos [90].

A eficácia dos antioxidantes pode ser medida pela atividade antioxidante, da qual se pode inferir as suas propriedades, disponibilidade e os efeitos no organismo após consumo. Apesar de existirem diferentes métodos para a determinação deste parâmetro, não existe um método padrão oficial, isto porque os antioxidantes podem atuar por vários mecanismos, como por exemplo, sequestrando os radicais livres, decompondo os peróxidos e quelando os iões metálicos. Considerando estes factos, sugere-se utilizar sempre mais do que um procedimento analítico, sendo determinadas diferentes propriedades e características antioxidantes [91,92].

A capacidade antioxidante da polpa e das sementes do baobab já foi estudada por vários autores. Lamien-Meda *et al.* (2008) [18] testaram diferentes métodos (DPPH, ABTS e FRAP) em polpa através de diferentes solventes extratores (metanol e acetona), e verificaram que os os métodos de ABTS e FRAP apresentam valores de atividade antioxidante superior (FRAP: ~20 - 25 mmol AEAC/ 100 g; ABTS: ~250 - 300 mmol AEAC/ 100 g). Já Brady (2011) [28] observou que os extratos hidrofílicos de polpa apresentavam maior capacidade antioxidante do que os extratos apolares, recorrendo às técnicas de DPPH e FRAP. A maior atividade antioxidante obtida nos extratos polares poderá estar associada com os elevados teores de ácido ascórbico presente na polpa do fruto [44,45].

No entanto, tanto os compostos fenólicos como os flavonoides apresentam atividade antioxidante, tendo-se verificado uma correlação positiva entre eles e a atividade antioxidante [18,28,70].

1.4.2. Atividade antimicrobiana

A presença de fitoquímicos pode afetar o crescimento de certos microrganismos, conferindo propriedades antimicrobianas à planta.

Vários estudos descreveram propriedades antimicrobianas da polpa da *A. digitata* L. [26,28,93,94] e reportaram atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em extratos hidrofílicos da polpa, os quais foram concordantes com os descritos por Yagoub (2008) [94]. Também Afolabi e Popoola (2005) [93] descreveram atividade contra bactérias patogênicas (*Salmonella* spp., *Bacillus* spp. e *Streptococcus* spp.), quando incorporada no Tempeh (alimento típico da Indonésia).

Para além da polpa do fruto, também as folhas apresentam atividade contra *Mycobacterium aurum*, o qual está relacionado com *Mycobacterium tuberculosis*, uma vez que ambos apresentam perfis semelhantes de sensibilidade a drogas [70].

A polpa do fruto da *A. digitata* L. também inclui atividade antivírica contra o vírus da gripe (*Influenza*), *herpes simplex* e o vírus sincicial respiratório, apresentando efeitos a nível da secreção de citocinas (IL - 6 e IL - 8) em culturas de células epiteliais humanas [95]. No entanto, a maior atividade foi observada contra o vírus *Influenza*.

Estes estudos reforçam a importância da valorização do fruto do baobab, em novas aplicações farmacêuticas e alimentares.

1.4.3. Outras atividades biológicas

Para além das atividades antioxidante e antimicrobiana, muitas outras atividades biológicas foram descritas na *A. digitata*, tais como hepatoprotetora, anti-inflamatória, antipirética, analgésica, antidiarréica, redução da digestão do amido e resposta glicémica e antitumoral [22,28,69,96]. Por exemplo, Al-Qarawi *et al.* (2003) [97] testaram as propriedades hepatoprotetoras da polpa de baobab contra o CCl₄ (tetracloreto de carbono) em ratos albinos Wistar. Neste estudo, o extrato aquoso da polpa diminuiu a concentração de bilirrubina após o tratamento, indicando a sua eficácia como hepatoprotetor.

Tanto a polpa como as sementes são modeladores ativos de citocinas, sendo algumas pro-inflamatórias e outras anti-inflamatórias [95]. Os extratos aquosos da polpa do fruto exibiram efeitos anti-inflamatórios equivalentes aos efeitos da fenilbutazona, bem como efeitos antipiréticos e analgésicos semelhantes aos exercidos pelo ácido

acetilsalicílico [98]. Segundo Sugandha *et al.* (2013) [24], as atividades analgésicas e antipiréticas resultam da presença de esteróis, saponinas e triterpenos na polpa do fruto do baobab.

Um dos maiores problemas de saúde em África é a taxa elevada de mortalidade infantil associada à carência de água potável e, conseqüentemente, o aumento da incidência de diarreias. Segundo a OMS, o contexto atual de secas e conflitos agravam a situação. O fruto do baobab, endémico da região, torna-se assim uma mais-valia para a população local, devido aos seus efeitos terapêuticos contra a diarreia [22]. Os principais compostos apontados para este efeito terapêutico são os taninos, compostos adstringentes presentes no mesmo. Sendo o baobab um recurso natural, facilmente disponível à população africana, poderá ser uma boa alternativa terapêutica.

Ainda sobre as propriedades biológicas do baobab, Elsaid (2013) [96] observou atividade antitumoral em células de tumor ascítico de Ehrlich em ratos, a partir de extratos da polpa e da semente da *A. digitata*. Neste estudo, tanto a polpa como as sementes foram capazes de restaurar e modular alguns marcadores tumorais, bem como a atividade da arginase no soro de ratinhos com tumor ascítico de Ehrlich. Também atenuaram a expressão de genes pro e anti-apoptóticos que levam ao controlo do crescimento tumoral.

Por todos os motivos supracitados, o fruto da *A. digitata* pode ser considerado como um produto natural com elevado potencial, não só para a área alimentar, como farmacêutica e cosmética.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral determinar a composição nutricional e química, bem como a avaliação do potencial antioxidante da polpa e das sementes do fruto da *Adansonia digitata* L. (baobab), proveniente de Angola.

2.1.1. Objetivos específicos

- Determinação da composição nutricional:
 - Determinação do teor de humidade;
 - Determinação do teor de cinzas;
 - Determinação do teor de gordura total;
 - Determinação do teor de proteínas;
 - Determinação do teor de fibras dietéticas totais;
 - Determinação do teor de hidratos de carbono.
- Estudo do perfil lipídico:
 - Composição em ácidos gordos;
 - Teor de vitamina E.
- Determinação do teor de vitamina C.
- Determinação do teor de compostos bioativos.
- Determinação da atividade antioxidante de extratos hidroalcoólicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Reagentes e padrões

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico.

- Proteínas: pastilhas catalisadoras Kjeldahl ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{CuSO}_4$) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado 96% da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA); hidróxido de sódio (NaOH) da VWR International (Leuven, Bélgica); ácido bórico (H_3BO_3) da Panreac (Barcelona, Espanha).

- Lípidos: sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) da Merck (Darmstadt, Alemanha); éter de petróleo da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

- Ácidos gordos: metanol da VWR International (Leuven, Bélgica); hidróxido de potássio (KOH) da Panreac (Barcelona, Espanha); n-hexano HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha); mistura de padrões de ácidos gordos (FAME 37, Supelco, Bellefonte, PA, USA).

- Fibras: α -amilase termoestável, protease e amiloglucosidade do kit TDF-100A, SIGMA; etanol absoluto da Fisher Chemical (Loughborough, Inglaterra); acetona da VWR International (Leuven, Bélgica).

- Vitamina E: n-hexano HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha); 1,4-dioxano da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); padrões de tocoferóis e tocotrienóis: α , β , γ , δ -tocopherol e α , β , γ , δ -tocotrienol da Calbiochem (La Jolla, CA, EUA); padrão interno de tocol: 2-metil-2-(4,8,12-trimetiltridecil)-cromano-6-ol da Matreya Inc (PA, EUA).

- Vitamina C: ácido L-ascórbico extra puro da Riedel-de Haën (Seelze, Alemanha); ácido metafosfórico (HPO_3) da Prolabo (Mollet del Vallés, Barcelona, Espanha); hidrocloreto de tris-[2-carboxietil] fosfina ($\text{TCEP}\cdot\text{HCl}$) da Fluka (Buchs, Suíça); ácido perclórico (HClO_4), ácido ortofosfórico (H_3PO_4) e di-hidrogenofosfato de amónio ($\text{NH}_4\text{-H}_2\text{PO}_4$) da Merck (Darmstadt, Alemanha).

- Extração dos compostos bioativos: etanol absoluto da Fisher Chemical (Loughborough, Inglaterra); Água desionizada.

- Fenólicos totais: carbonato de sódio (Na_2CO_3) e ácido gálico ($\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); reagente de Folin-Ciocalteu da Merck (Darmstadt, Alemanha).

- Flavonoides totais: catequina ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$) e nitrito de sódio (NaNO_2) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); cloreto de alumínio (AlCl_3) da Panreac (Barcelona, Espanha); hidróxido de sódio (NaOH) da VWR International (Leuven, Bélgica).

- Clorofilas e carotenoides: acetona da VWR International (Leuven, Bélgica); n-hexano da Carlo Erba Reagents (Val de Reuil, França).
- Atividade antioxidante: DPPH*, TPTZ, acetato de sódio (CH₃COONa), ácido acético glacial (CH₃COOH), cloreto férrico (FeCl₃) e sulfato ferroso (FeSO₄) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

3.2. Amostras

Neste estudo foram analisados frutos da *A. digitata* L. adquiridos num mercado local em Luanda, Angola, em 2014. Após receção dos frutos, efetuou-se a remoção da casca e procedeu-se à separação da polpa e das sementes do mesmo (Figura 2), criando-se 2 grupos de amostras: miolo das sementes e polpa do fruto. Para a obtenção de uma amostra homogénea do miolo das sementes do fruto, efetuou-se a remoção manual da casca exterior do mesmo, tendo-se triturado em moinho até à obtenção de um pó fino. A polpa (ainda junto com as sementes) foi colocada num moinho e depois peneirada, garantindo a sua separação das sementes. Todas as amostras foram devidamente acondicionadas em frascos de amostragem e conservadas ao abrigo da luz.

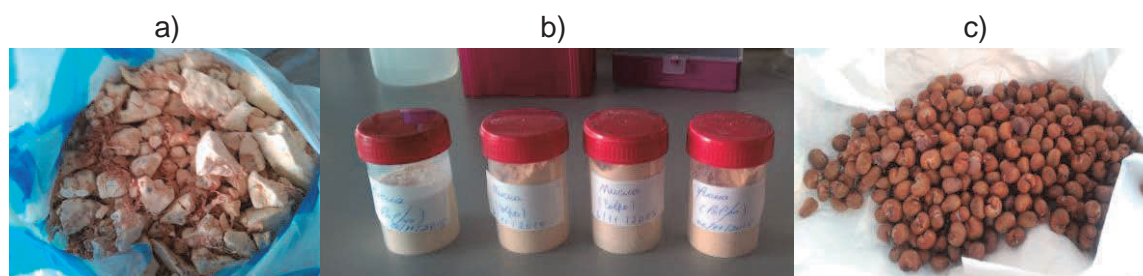


Figura 2. Polpa e sementes do fruto baobab. a) sementes envoltas em polpa; b) polpa isolada; c) sementes isoladas.

3.3. Análise centesimal

As amostras foram analisadas quanto à composição nutricional, nomeadamente, humidade, cinzas, proteínas, lípidos, fibras e hidratos de carbono de acordo com os procedimentos oficiais de análises da AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

3.3.1. Determinação do teor de humidade

A humidade foi determinada instrumentalmente, usando uma balança de determinação de humidade, equipada com uma lâmpada de infra-vermelhos (Scaltec® modelo SMO 01, Scaltec instruments, Germany). Uma toma de ~1 g de amostra foi submetida a um processo de secagem a $100 \pm 2^\circ\text{C}$, até atingir uma massa constante. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/ 100 g de produto.

3.3.2. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado por incineração direta da amostra (1 - 2 g) em mufla aquecida gradualmente até 550°C , (Thermolyne 48000, F48010-26, Electrothermal Engineering Ltd, Essex, United Kingdom) até obtenção de cinzas brancas, seguindo o método oficial da AOAC (920.153) [99]. O resultado foi determinado pela diferença da massa antes e depois do processo de incineração. As análises foram realizadas em duplicado e os resultados expressos em g/ 100 g de amostra em peso seco.

3.3.3. Determinação do teor de gordura total

Para a determinação do teor de gordura total foi usado o método de Soxhlet (AOAC 948.22) [100]. Uma toma de aproximadamente 5 g de amostra foi adicionada a uma quantidade suficiente de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), para absorção da humidade, e areia para evitar a colmatação durante a passagem do solvente (éter de petróleo). A mistura, isenta de humidade foi transferida para cartuxos de celulose e estes colocados em ampolas de extração dos dispositivos de Soxhlet. A extração foi efetuada a quente, durante 8 horas, para balões de fundo redondo, previamente tarados e identificados. Após terminada a extração, procedeu-se à recuperação do solvente por evaporação e, por fim, em estufa a 100°C durante períodos de 30 minutos. Os balões foram arrefecidos num exsiccador e pesados até obtenção de massa constante. As análises foram feitas em duplicado e os resultados apresentados em g/ 100 g de amostra em peso seco.

3.3.4. Determinação do teor de proteína

Para a determinação do teor de proteína foi utilizado o método de Kjeldahl (AOAC 928.08, 2012) [101], através da quantificação de azoto total presente nas amostras. Cerca de 1 g de amostra foi pesada em papel isento de azoto e colocada num tubo de Kjeldahl junto com duas pastilhas catalisadoras (Kjeldahl tablets) e 20 mL de ácido sulfúrico (96%). A digestão ácida foi realizada num digestor automático K-424 (BÜCHI®, BÜCHI Labortchnik AG, Switzerland) e os gases recolhidos num neutralizador de gases Scrubber B-414 (BÜCHI®, BÜCHI Labortchnik AG, Switzerland). A digestão terminou após obtenção de uma solução de tonalidade verde, garantindo a destruição da matéria orgânica por oxidação e formação de sais de amónio a partir do azoto orgânico.

A solução foi alcalinizada com 90 mL de hidróxido de sódio (32%), libertando-se amoníaco que, por destilação numa unidade de destilação automática unit K-360 (BÜCHI®, BÜCHI Labortchnik AG, Switzerland), foi recolhido em 60 mL de ácido bórico (4%, pH 4,5). Posteriormente efetuou-se uma titulação, utilizando H₂SO₄ (0,2 M) como titulante e vermelho de metilo como indicador.

Para determinar o teor de proteína das amostras, os resultados obtidos para o azoto total foram multiplicados por um fator de conversão de 6,25 [102]. As análises foram feitas em duplicado e os resultados expressos em g/ 100 g de amostra em peso seco.

3.3.5. Determinação do teor de fibra dietética total

O teor de fibra dietética total (FDT) foi determinado através de um método enzimático-gravimétrico (AOAC 985.29) [103], onde 4 alíquotas (~1 g) de cada amostra, após a adição de 50 mL de tampão fosfato (pH 6), foram digeridas e sujeitas a um processo de filtração, de forma a garantir a remoção total da componente não fibrosa presente na amostra. Em primeiro lugar, a amostra foi gelatinizada através de uma incubação com α -amilase termoestável, à qual se seguiram duas incubações num banho termostatizado (GDE, VELP® Scientifica, Usmate, Italy) com protease e com amiloglucosidade, de modo a simular o sistema digestivo. A FDT foi precipitada com etanol e o resíduo filtrado por um sistema de filtração (CSF-6, VELP® Scientifica, Usmate, Italy), sendo de seguida lavado com etanol e acetona, deixando-o na estufa a 105 °C durante a noite. Num dos duplicados de cada alíquota foi determinado o teor de proteínas não digeridas (método de Kjeldahl) e, no outro, o teor de cinzas (incineração a

550 °C). A FDT corresponde à massa, em percentagem (%), do resíduo após a digestão, retirado o valor do seu teor proteico e de cinzas, corrigido também com a subtração do valor do ensaio do branco (controlo).

$$\%TDF = [(resíduo - proteína - cinzas - branco^*) / amostra] \times 100$$

$$*branco = resíduo_{branco} - proteína_{branco} - cinzas_{branco}$$

3.3.6. Determinação do teor de hidratos de carbono

O teor de hidratos de carbono foi determinado pelo método indirecto, ou seja, através do cálculo da diferença dos restantes parâmetros nutricionais das amostras, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Hidratos de Carbono} = 100\% - (\% \text{ Proteína} + \% \text{ Lípidos} + \% \text{ Cinzas} + \% \text{ Fibras})$$

Os resultados foram expressos em g/ 100 g de amostra em peso seco.

3.4. Determinação da composição em ácidos gordos

A determinação da composição em ácidos gordos foi efetuada na gordura extraída pelo método de Soxhlet (descrito no subcapítulo 3.3.3.), recorrendo à cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama (GC / FID). O perfil de ácidos gordos foi determinado de acordo com a ISO 12966-2:201 [104].

3.4.1. Derivatização

A derivatização dos ácidos gordos em ésteres metílicos (FAME) foi efetuada de acordo com o método de transesterificação alcalina a frio, com uma solução metanólica de hidróxido de potássio. Foram colocados 2 mL de n-hexano em tubos de vidro (4 mL de capacidade) aos quais foram adicionadas 2 gotas de gordura, seguido de uma homogeneização em vortex. De seguida, adicionaram-se 200 µL de solução de KOH em metanol (2 M) e vortexou-se de novo durante 1 minuto. Posteriormente adicionou-se sulfato de sódio anidro, vortexando-se outra vez. Após repouso, transferiu-se 1 mL da fase orgânica (sobrenadante) para um vial com rolha de septo perfurável, apropriada para um injetor automático.

3.4.2. Análise cromatográfica

Os ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) foram determinados por cromatografia gasosa (Shimadzu GC-2010 *Plus*, Shimadzu, Tokyo, Japan) acoplado a um auto-injetor split/splitless (Shimadzu AOC-20i auto-injector, Shimadzu, Tokyo, Japan) com detetor de ionização de chama (Shimadzu, Tokyo, Japan). O sistema cromatográfico estava equipado com uma coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (Varian, Middelburg, The Netherlands; 50 mm x 0,25 mm diâmetro interno, 0,20 mm de espessura de filme). O volume de injeção de amostra foi de 1,0 µL e o hélio foi usado como gás de arraste. O programa de temperaturas foi o seguinte: 120 °C durante 5 minutos, aumento da temperatura até 220 °C a 3 °C por minuto e temperatura constante de 220 °C durante 10 minutos. As temperaturas do injetor e do detetor foram respetivamente de 250 e 270 °C. Foi utilizado um split de 1:25.

Os FAME foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os da mistura de padrões (Supelco 37 Component FAME Mix, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Cada FAME foi expresso em percentagem relativa dos FAME totais. Os dados foram analisados no software GC Solution (Shimadzu, Tokyo, Japan).

3.5. Determinação do teor de vitamina C

3.5.1 Preparação das amostras

Pesaram-se cerca de 4 g de amostra para um tubo de polipropileno de 50 mL, adicionando-se 12 mL de uma solução estabilizadora (10% (v/v) de ácido perclórico e 1% (v/v) de ácido metafosfórico em água ultrapura e 32 mL da solução de TCEP•HCL, vortexando-se por 1 minuto. Esta solução foi diluída para um frasco volumétrico com a fase móvel (NH₄H₂PO₄ 20 mM, pH 3,5 (ajustado com H₃PO₄, 85 %), contendo 0,015 % de m-H₃PO₄ (m/v)). As amostras foram filtradas duas vezes, a primeira por papel de filtro 150 mm Macherey-Nalgel (Macherey-Nalgel GmbH & Co. KG, Alemanha), e depois por um filtro PVDF Millipore 0,45 µm (Millipore Corporation, Bedford, MA, EUA).

3.5.2 Análise cromatográfica

A separação e quantificação do ácido ascórbico foi realizada num sistema de HPLC Alliance 2695 (Waters, Milford, MA, EUA), equipado com um detetor de diodos

2996 Waters (PDA), usando uma coluna analítica Synergi™ Hydro-RP (150 x 4,6 mm D.I., 4,0 µm de tamanho de partícula) da Phenomenex (Torrance, Califórnia, EUA) protegida com um cartucho SecurityGuard AQ C18 (40 x 2,0 mm D.I., 5 µm de tamanho de partícula) da Phenomenex (Torrance, Califórnia, EUA). A deteção foi feita a 246 nm e as áreas dos picos foram quantificadas e processadas com a versão 2.0 do Software Empower™ (Waters, Milford, MA, EUA). A fase móvel foi filtrada através de um filtro Pall da GH Polypro de 0,45 µm (Gelman Laboratory, Canadá) e posteriormente desgaseificada durante 30 minutos. O tempo total de análise foi de 8 minutos a uma velocidade de fluxo de 0,6 mL/ min. A temperatura da coluna foi mantida a 30 °C e o amostrador automático a 4 °C. O volume injetado no sistema de HPLC foi de 30 µL. Os resultados foram expressos em mg/ 100 g de amostra.

3.6. Determinação do teor de vitamina E

A determinação do teor de vitamina E foi realizada a partir da gordura extraída pelo método de Soxhlet anteriormente descrito (ponto 3.3.3.). Para a identificação e quantificação dos compostos individuais prepararam-se soluções padrão em n-hexano (1,5 – 25 µg/ mL), contendo os seguintes vitâmeros: α, β, γ, δ-tocoferol e α, β, γ, δ-tocotrienol. Cada uma destas soluções continha 20 µL de padrão interno (PI, tocol) à concentração de 1 mg/ mL.

3.6.1. Preparação das amostras

Para a preparação das amostras, pesaram-se rigorosamente cerca de 30 mg de gordura para *ependorf*, às quais se adicionaram 20 µL de PI, completando o volume a 1 mL com n-hexano. Agitou-se a mistura em vortex (VWR International) e centrifugou-se (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instruments, Alemanha) a 13 000 rpm, durante 2 minutos.

De seguida, transferiu-se o sobrenadante para tubos de injeção Supelco âmbar de 2 mL, com rolhas perfuráveis. As amostras foram conservadas a -20 °C até serem analisadas por HPLC/DAD/FLD [105].

3.6.2. Análise cromatográfica

A análise cromatográfica foi realizada num sistema HPLC integrado da Jasco (Japão) equipado com duas bombas (PU-980), um injetor automático (AS-2057 Plus), e um detetor de díodos (MD-2015 Plus) acoplado a um detetor de fluorescência (FP-2020 Plus). A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna de fase normal Supelcosil LC-SI (3 μ m; 75 mm \times 3.0 mm; Supelco, Bellefonte, EUA). A fase móvel consistiu numa mistura de n-hexano e 1,4-dioxano (98,5:1,5; v/v), a um fluxo de 0,8 mL/ minuto [106].

A identificação dos compostos foi feita com base nos seus espectros de UV e tempos de retenção, comparativamente aos dos padrões. Para a quantificação dos compostos, recorreu-se ao método do padrão interno, usando os cromatogramas obtidos com o detetor de fluorescência ($\lambda_{\text{excitação}} = 290$ nm; $\lambda_{\text{emissão}} = 330$ nm). A análise de dados foi feita com o Software Chromnav versão 1.18.03 (Jasco, Japão). Todas as análises foram efetuadas em duplicado e os resultados expressos em mg/ 100 g de gordura.

3.7. Determinação do teor de clorofilas e carotenoides

Os pigmentos das amostras foram determinados por espectrofotometria (Shimadzu - UV 1800 Spectrophotometer, Japão). Aproximadamente 1 g de amostra foi submetida a um processo de extração, utilizando como solvente 20 mL de uma mistura de acetona:n-hexano (4:6). A solução foi centrifugada a 3500 rpm, durante 30 minutos (Heraeus Megafuge 16 Centrifuge, Thermo scientific, Heraeus Instruments, Alemanha). Recolheu-se o sobrenadante e efetuaram-se as leituras das absorvências a diferentes comprimentos de onda (453, 505, 645 e 663 nm) para quantificar os teores de clorofilas e carotenoides, seguindo o método adaptado de Nagata e Yamashita (1992) [107].

As diferentes leituras de cada amostra e comprimento de onda foram efetuadas em triplicado e os resultados expressos em mg/ g de amostra. As fórmulas utilizadas para os cálculos dos teores da clorofila a, clorofila b, β -caroteno e licopeno foram as seguintes:

- Clorofila a (mg/ g) = $0,999A_{663} - 0,0989A_{645}$
- Clorofila b (mg/ g) = $-0,328A_{663} + 1,77A_{645}$
- β -caroteno (mg/ g) = $0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$
- Licopeno (mg/ g) = $-0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$

3.8. Compostos bioativos e atividade antioxidante

3.8.1. Preparação dos extratos

A avaliação dos compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides) e da atividade antioxidante foi determinada em extratos hidroalcoólicos. Para estes extratos utilizou-se como solvente uma solução de 50:50 (água:etanol, v/v), procedendo-se a uma extração sólido/líquido (0,5 g/ 50 mL), em placa de aquecimento com agitação constante, durante 60 minutos, a 40 °C de acordo com o procedimento descrito por Costa *et al.* (2014) [13]. Os extratos obtidos foram filtrados com papel de filtro Whatman N°. 1 e congelados a -25 °C para posterior análise. Os extratos foram realizados em triplicado.

3.8.2. Determinação do teor de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais (FT) dos extratos hidroalcoólicos foi determinado espectrofotometricamente, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteau (RFC) [108]. Os compostos fenólicos reagem com o RFC apenas em condições alcalinas [108]. Utilizando o método descrito por Alves *et al.* (2009) [105], colocaram-se 500 µL de extrato, branco ou padrão (solução de ácido gálgico, 1000 ppm), aos quais adicionaram-se 2,5 mL de RFC diluído (1:10), deixando em repouso durante 5 min. Em seguida, adicionaram-se 2,5 mL de solução de carbonato de sódio (7,5 %). Os extratos foram colocados num banho a 45 °C durante 15 minutos, seguido de 30 minutos à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Foi determinada a absorvência a 765 nm, utilizando um Leitor de Microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Synergy HT GEN5, EUA).

A correlação entre a absorvência da amostra e a concentração do padrão (ácido gálgico) foi obtida através de uma reta de calibração (gama de linearidade: 0 - 100 mg/ L, $R^2= 0,9984$) efetuada aquando das determinações (Figura 3). O teor de FT foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálgico (EAG) por g de amostra.

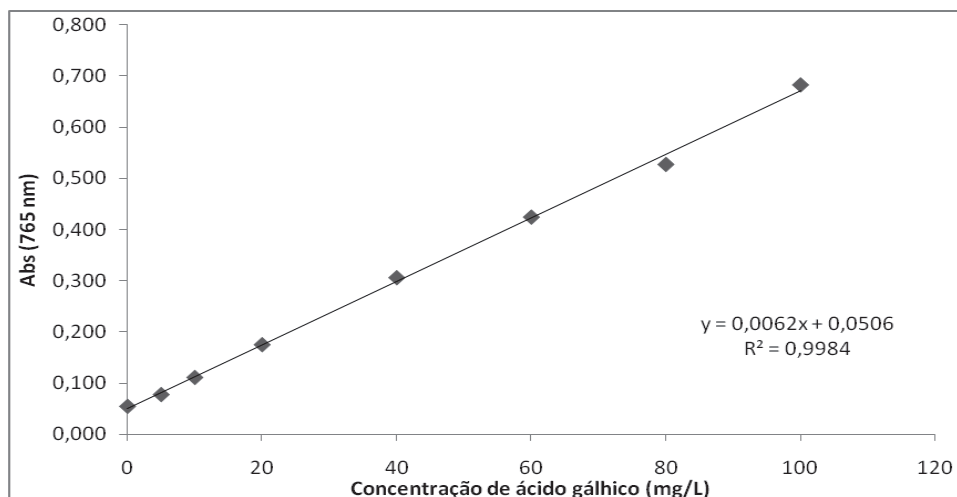


Figura 3. Curva de calibração do ácido gálgico (mg/ L).

3.8.3. Determinação do teor de flavonoides totais

A determinação do teor de flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos seguiu uma metodologia colorimétrica baseada na formação de um complexo flavonoide-alumínio [110]. Num tubo de ensaio, colocou-se 1 mL de amostra, 4 mL de água destilada e 300 μ L de solução de nitrito de sódio (NaNO_2 , 5%). Após 5 min adicionaram-se 300 μ L de cloreto de alumínio (AgCl_3 , 10%), deixando reagir durante 1 min. Por fim adicionaram-se 2 mL de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH , 1M) e 2,4 mL de água destilada. As soluções foram homogeneizadas e as leituras foram efectuadas a 510 nm, utilizando um Leitor de Microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Synergy HT GENS5, EUA).

A correlação entre a absorvência da amostra e a concentração do padrão (catequina) foi obtida através de uma reta de calibração (gama de linearidade: 0 - 450 mg/ L, $R^2 = 0,9961$) efectuada aquando das determinações (Figura 4). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina (EC) por g de amostra.

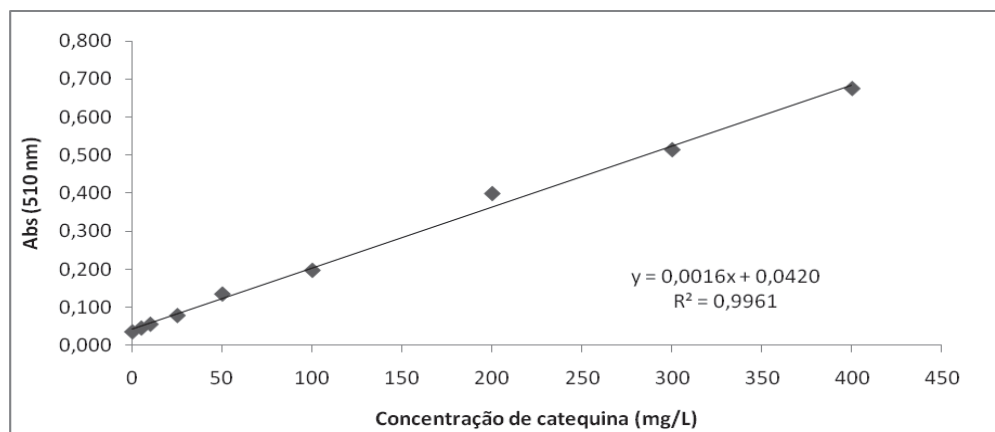


Figura 4. Curva de calibração da catequina (mg/ L).

3.8.4. Determinação da atividade antioxidante

Para uma substância ser definida como antioxidante deve prevenir ou retardar a oxidação, mesmo em baixa concentração relativamente ao substrato a ser oxidado e, além disso, deve formar radicais estáveis após a reação [111].

Para a avaliação da atividade antioxidante foram realizados dois ensaios *in vitro*, segundo metodologias previamente descritas por Rodrigues *et al.* (2013) [112] e Benzie e Strain (1999) [113]: Determinação da capacidade de neutralização do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH^{*}) e a avaliação do poder antioxidante por redução do íão férrico (FRAP), respetivamente.

3.8.4.1. Ensaio da atividade captora de radicais DPPH^{*}

O DPPH^{*} é um radical estável que é utilizado para avaliar as capacidades redutoras dos radicais livres provenientes de vários compostos antioxidantes, através da perda de absorvência medida a 517 nm.

O processo consistiu em introduzir diretamente 14 µL de diferentes concentrações de extrato e 186 µL de solução etanólica de DPPH^{*} ($6,0 \times 10^{-5}$ mol/ L) preparada na hora, numa placa de 96 poços, e efetuar as leituras a 517 nm em leitor de microplacas (BioTek Instruments, Synergy HT GENS5, EUA). O decréscimo de absorvência correspondente ao DPPH^{*} foi determinado de 2 em 2 minutos, até a reacção estabilizar, o que demorou cerca de 60 minutos. A percentagem de inibição foi obtida através da equação:

$$\% I = [(A_{DPPH} - A_s) / A_{DPPH}] \times 100$$

3.8.4.2. FRAP

Este método consiste na redução do complexo Fe (III)/ ferricianeto $[\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a Fe (II), forma ferrosa, pelo composto antioxidante presente na solução. Assim, determinou-se o poder antioxidante por redução do ião férrico, segundo metodologia previamente descrita [113].

Colocaram-se num tubo de ensaio 90 μL de extracto, 270 μL de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP (750 mL de tampão acetato (0,3 M), 75 mL de solução TPTZ (10 mM) e 75 mL de cloreto férrico (20 mM)). Homogeneizou-se a solução e colocou-se em banho-maria a 37 °C. Após 30 minutos, efetuaram-se as leituras das absorvências a 595 nm em leitor de microplacas (BioTek Instruments, Synergy HT GEN5, EUA).

O padrão de sulfato ferroso (2 mM) foi utilizado para obter a curva de calibração (gama de linearidade: 0-2000 mg/ L, $R^2 = 0,9903$) efetuada aquando das determinações (Figura 5). Os resultados foram expressos em μmol de equivalentes de sulfato ferroso (ESF) por g de amostra.

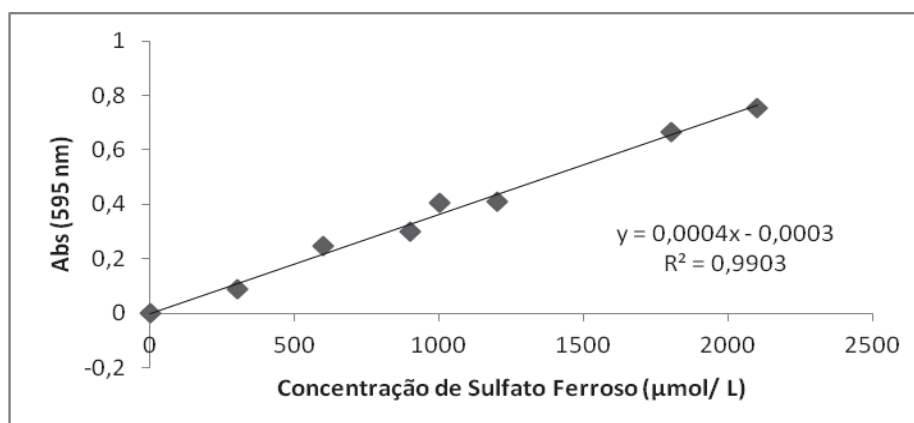


Figura 5. Curva de calibração do sulfato ferroso ($\mu\text{mol/ L}$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise centesimal

A determinação do perfil nutricional da polpa e do miolo das sementes da *A. digitata* L. é essencial para a valorização do seu consumo e possíveis aplicações a nível industrial. A composição nutricional das amostras (polpa e miolo das sementes do baobab) está representada na Tabela 1.

Tabela 1. Macronutrientes da polpa e miolo das sementes do fruto do baobab, expressos em g /100 g de peso seco.

Composição nutricional	Polpa	Miolo da semente
Humidade	12,95 ± 0,04	7,73 ± 0,6
Cinzas	8,0 ± 0,1	7,2 ± 0,05
Gordura	0,4 ± 0,1	35,3 ± 4,0
Proteína	2,3 ± 0,1	37,6 ± 0,3
Fibras dietéticas totais	52,0 ± 1,0	12,2 ± 0,7
Hidratos de carbono	37,0 ± 1,0	7,7 ± 3,0
Valor energético	160,0 kcal/ 100 g 683,3 kJ	498,9 kcal/ 100 g 2111,5 kJ

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão (n=2) em g/ 100 g de peso seco de amostra.

Pela análise dos resultados obtidos (Tabela 1) verificaram-se diferenças em quase todos os parâmetros avaliados. O miolo das sementes tem valores mais elevados de gordura (35,3 g/ 100 g) e de proteína (37,6 g/ 100 g). No entanto, a polpa do fruto apresentou teores superiores em cinzas (8,0 g/ 100 g), fibras dietéticas totais (52,0 g/ 100 g) e hidratos de carbono (37,0 g/ 100 g). O teor de humidade foi significativamente superior na polpa, o que reflete uma relação inversamente proporcional com o teor de gordura presente em cada amostra. Embora estes valores sejam relativamente baixos, garantindo a não perecibilidade do fruto, ambos estão acima dos valores de humidade descritos por outros autores, conforme dados publicados na Tabela 2.

Para melhor compreensão dos resultados obtidos e respetiva discussão dos resultados citam-se os valores descritos na literatura para os macronutrientes estudados, registados na Tabela 2.

Tabela 2. Macronutrientes descritos na literatura, referentes à polpa e sementes do baobab.

Composição Nutricional	Polpa	Semente
Humidade	4,7 - 10,4 [35,36,44,59,104]	4,3 - 5,9 [36,59,114]
Cinzas	4,5 - 6,1 [28,35,36,44,59,104]	3,8 - 9,1 [36,55,59,114]
Gordura	0,2 - 3,3 [35,36,51,58,59,104,114]	12,2 - 29,3 [22,36,51,55,59,114]
Proteínas	2,5 - 5,6 [35,36,44,59,104,114]	15,6 - 36,3 [22,36,51,55,59,114]
Fibras	1,48 - 11,9 [28,35,36,44,51,104]	8,6 - 16,2 [36,51]
Hidratos de carbono	67,8 - 89,15 [28,35,36,44,51]	29,1 - 69,1 [22,36,51,55,114]

Em relação à composição em cinzas, os teores foram idênticos em ambas as amostras e concordantes com os valores descritos por outros autores, embora o teor de cinzas na polpa (8,0 g/ 100 g) tenha sido superior ao valor máximo descrito na literatura (6, 1 g/ 100 g) [28]. Quanto maior o teor de cinzas, menor a quantidade de matéria orgânica, sendo este parâmetro também um bom indicador do teor mineral presente na matriz em estudo [114]. O teor de cinzas encontrado nas sementes também está concordante com os reportados noutros estudos, verificando-se, de uma maneira geral, que as oscilações do teor de cinzas da polpa e das sementes são pequenas.

As proteínas são constituintes importantes dos alimentos, e contribuem de várias formas para o organismo humano. Têm um papel biológico importante, exercendo funções a nível estrutural, enzimático, hormonal, energético e de defesa [116]. Pela análise dos resultados, verificou-se que a semente apresentou teores significativamente superiores aos da polpa (16 vezes mais). Embora estes valores sejam concordantes com os descritos por outros autores, destaca-se o aporte proteico da semente, valorizando-a para futuras utilizações. Contudo, para a avaliação da qualidade proteica destas matrizes alimentares, principalmente do miolo, sugerem-se mais estudos, nomeadamente, na composição em aminoácidos [117]. As sementes e a polpa do baobab apresentam quantidades elevadas de ácido aspártico, ácido glutâmico e arginina, e quantidades baixas de aminoácidos sulfurados. Sabe-se também que as sementes contêm uma quantidade relativamente elevada de aminoácidos essenciais (arginina, leucina, valina e lisina) [118].

Quanto ao teor de lípidos, apesar do consumo excessivo de gorduras estar relacionado com diversas doenças crónicas, estes são a principal forma de

armazenamento de energia, sendo importantes na formação da bicamada lipídica das membranas celulares, no funcionamento de enzimas, hormonas e sinalizadores intracelulares, entre outros [119]. Assim, neste trabalho, verificou-se um teor bastante baixo de gordura na polpa (0,4 g/ 100 g), enquanto o miolo das sementes apresentou um valor elevado (35,3 g/ 100 g), superior os valores anteriormente publicados. Esta diferença, assim como algumas referidas anteriormente em relação às sementes, poderão ser explicadas pela diferença do processamento da amostra, visto que neste trabalho o miolo foi isolado de tudo o resto manualmente (preservando total integridade do mesmo), enquanto em outros trabalhos a casca das sementes estão trituradas junto com o miolo, ou um processamento químico está envolvido para as eliminar (que poderá alterar as características do miolo).

Para uma melhor análise do perfil lipídico, principalmente do miolo das sementes, foi avaliada a composição em ácidos gordos e vitamina E, cuja discussão será efetuada mais à frente.

Analisando agora os valores obtidos de hidratos de carbono na polpa, não se pode deixar de ter em conta o valor de fibras dietéticas totais, pois os primeiros apresentaram valores inferiores aos descritos pela literatura enquanto as fibras são bastante superiores. Isto pode ser devido a alguns autores apenas reportarem o teor de fibra crua ou de celulose em vez do teor total de fibras dietéticas que aqui foi determinado. Isto faz com que o teor de fibras seja subestimado e aumenta a quantidade aparente de hidratos de carbono digeríveis, visto que estes são calculados pela massa restante após a proteína, gordura, cinzas e fibras serem subtraídas a 100 g de amostra [59]. Como neste trabalho as fibras dietéticas totais foram determinadas (apresentando valores elevados de 52,0 g/ 100 g), o valor de hidratos de carbono foi obrigatoriamente inferior (37,0 g/ 100 g).

No caso do miolo das sementes, as fibras encontram-se dentro dos valores relatados pela literatura, contudo, os hidratos de carbono foram inferiores (7,7 g/ 100 g). Isto poderá ser explicado pelas mesmas razões já referidas para o teor de gordura.

Tendo já discutido os nutrientes que podem fornecer energia, poder-se-á abordar os valores energéticos das duas amostras estudadas. O valor energético foi determinado usando fatores de conversão para os hidratos de carbono, gorduras e proteínas (4 kcal, 9 kcal e 4 kcal por grama, respetivamente). A polpa apresentou um teor calórico baixo (160 kcal/ 100 g), valor expectável face às reduzidas concentrações de gordura e de proteína. Comparando o valor calórico da polpa do baobab com outras frutas previamente

desidratadas, verificou-se que o baobab apresentou um valor calórico significativamente inferior aos descritos na maçã (346 kcal/ 100 g), no damasco (320 kcal/ 100 g), na banana (346 kcal/ 100 g) e no pêssigo (325 kcal/ 100 g) [120]. Esta característica poderá ser interessante para usar a polpa como ingrediente em alimentos específicos.

Mediante o aporte nutricional da polpa e da semente, poder-se-á dizer que ambas são fontes naturais com potencial, ricas em macronutrientes, direcionáveis para diferentes aplicações industriais. Por exemplo, as fibras dietéticas são hoje consideradas componentes importantes da nossa dieta, desempenhando um papel importante na fisiologia do sistema digestivo. O consumo frequente de fibras dietéticas está associado a uma dieta rica em vegetais, cereais e frutas e relacionado com a redução do risco de neoplasias no sistema digestivo, particularmente o cancro do cólon e redução de várias desordens a nível orgânico como o excesso de peso ou a ocorrência de diarreias [42]. As fibras insolúveis não são digeridas no intestino, permitindo o esvaziamento gástrico, devido ao aumento do volume fecal e ao estímulo dos movimentos peristálticos. São usadas, principalmente, na prevenção de diarreias e na indução da sensação de saciedade, importante em dietas hipocalóricas. A polpa do baobab por possuir quantidades elevadas de fibras, demonstra ter propriedades prebióticas (alimento para os microrganismos probióticos), estimulando o crescimento e a atividade metabólica de um número limitado de grupos de microrganismos (*Bifidobacteria*, *Lactobacillus*), importantes na manutenção de várias funções no organismo humano, nomeadamente no aumento da digestão de lactose, no estímulo do sistema imunológico e na redução de processos inflamatórios [121-123].

4.2. Perfil de ácidos gordos

A análise do perfil de ácidos gordos foi efetuada em ambas as amostras, no entanto, neste trabalho, apenas estão referenciados os resultados do miolo das sementes (Tabela 3 e Figura 6), devido ao facto da polpa apresentar teores de gordura muito baixos (0,4 g/ 100 g).

Tabela 3. Composição em ácidos gordos do miolo das sementes, expressos em % total de FAME detetados (média \pm DP).

Ácidos Gordos	Médias (%)
C14:0	0,14 \pm 0,01
C16:0	24,10 \pm 0,24
C17:0	0,17 \pm 0,00
C18:0	3,58 \pm 0,04
C20:0	0,72 \pm 0,01
C22:0	0,23 \pm 0,01
C24:0	0,13 \pm 0,00
Σ SFA	29,07
C16:1	0,18 \pm 0,01
C18:1n9c	39,94 \pm 0,16
C20:1	0,16 \pm 0,02
Σ MUFA	40,28
C18:2n6c	30,49 \pm 0,35
C18:3n3	0,16 \pm 0,00
Σ PUFA	30,65
n-3	0,16
n-6	30,49
n-3/n-6	0,01
n-6/n-3	189,20

Os ácidos gordos determinados em maior quantidade do miolo das sementes do baobab foram o ácido oleico (C18:1n9), o ácido linoleico (C18:2n6) e o ácido palmítico (C16:0). O óleo das sementes deste fruto apresentou valores percentuais de 29,07 % de ácidos gordos saturados (SFA), 40,28 % de monoinsaturados (MUFA) e 30,65 % de polinsaturados (PUFA).

O ácido oleico tem uma vasta gama de propriedades benéficas, tais como na prevenção do cancro, desenvolvimento de doenças autoimunes, cardiovasculares e inflamatórias [124,125].

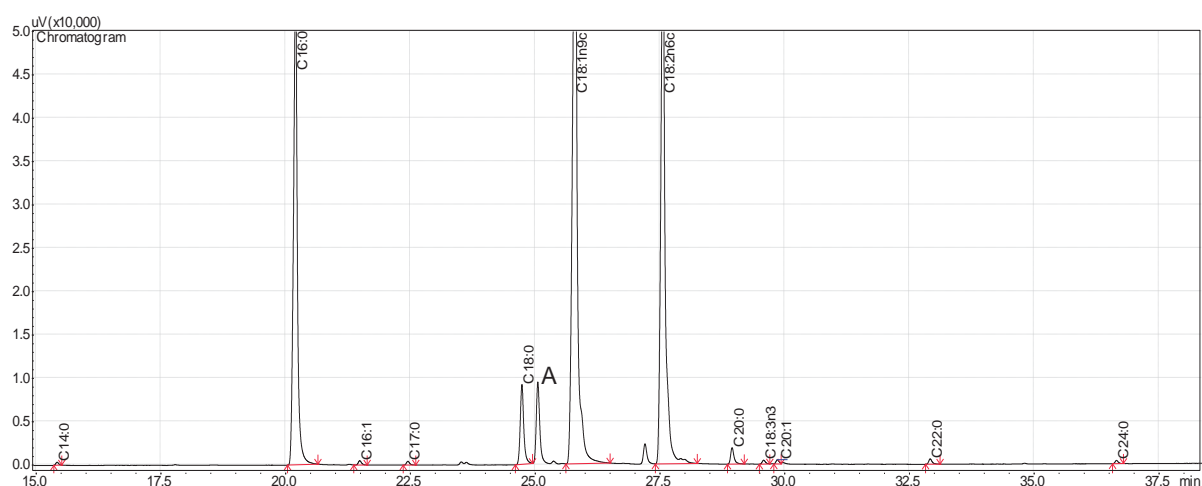


Figura 6. Cromatograma da análise dos ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) da polpa e do miolo da semente de baobab.

Quanto aos PUFA, estes representam 30,65 % na amostra, sendo o ácido linoleico o maioritário. Este ácido gordo pode ter efeitos benéficos no organismo, como, por exemplo, na resposta inflamatória e na regulação do sistema imunitário [126].

Os resultados obtidos estão em concordância com muitos autores. De facto, De Caluwé *et al.* (2010) [34] referiram que a maioria dos ácidos gordos presentes na polpa não atinge níveis detectáveis. Já Glew *et al.* (1997) [58] referiu que o ácido linoleico está presente em quantidades significativas na mesma.

Relativamente ao óleo da semente do baobab, Glew *et al.* (1997) [58] encontrou altas proporções de ácido linoleico e oleico, bem como de ácido palmítico e α -linoleico, dados concordantes com o nosso trabalho. De acordo com Osman (2004) [36], o óleo das sementes do baobab é uma excelente fonte de MUFA e PUFA, sugerindo o seu uso como óleo alimentar. Já Nkafamiya *et al.* (2007) [61] sugeriu a sua aplicação na indústria da cosmética, para o fabrico de sabões, devido à sua elevada facilidade em saponificar.

De notar um pico que surge depois do ácido esteárico (pico A), que não foi identificado, visto não corresponder a nenhum dos padrões de ácidos gordos injetados. Contudo, inferimos que seja o ácido malvático (cicloprenoide), pois este é um ácido gordo típico das Malvaceae [127], já identificado no óleo de sementes de baobab [128]. Este ácido gordo pode ser tóxico [129,130], contudo, a quantidade presente no óleo das sementes de baobab é baixa e o tratamento com altas temperaturas ou hidrogenação é eficaz na sua degradação [129]. Desta forma, mais estudos deverão ser efetuados para avaliar o efeito da presença deste ácido gordo.

4.3. Vitamina E

Os tocoferóis e tocotrienóis, genericamente descritos como vitamina E, têm um papel importante numa vasta gama de funções biológicas. É fundamental na proteção do organismo contra os efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigénio (ERO), tendo uma atividade antioxidante significativa, possuindo também grande potencial terapêutico no tratamento de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, aterosclerose, hiperlipidemia, osteoporose e cancro [62,131,132]. É uma vitamina com grande interesse para o consumidor devido aos seus efeitos benéficos para a saúde e também uma alternativa como antioxidante natural para a preservação dos produtos alimentares.

Existem no total oito vitâmeros, divididos em quatro tocoferóis (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol) e quatro tocotrienóis (α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol). Na Tabela 4 encontram-se os teores destes vitâmeros presentes nas amostras estudadas.

Tabela 4. Valor total de vitamina E e dos diferentes vitâmeros da polpa e do miolo das sementes de baobab.

Vitâmeros	Polpa	Miolo da semente
α -tocoferol	0,36 \pm 0,21	0,26 \pm 0,08
β -tocoferol	0,06 \pm 0,01	ND
γ -tocoferol	ND	34,38 \pm 0,89
δ -tocoferol	ND	2,59 \pm 0,22
α -tocotrienol	ND	ND
β -tocotrienol	ND	ND
γ -tocotrienol	ND	1,41 \pm 0,23
δ -tocotrienol	ND	ND
Total	0,42	38,64

Os valores são expressos em média \pm desvio padrão em mg/ 100g de gordura (n=3)
ND - não detetado

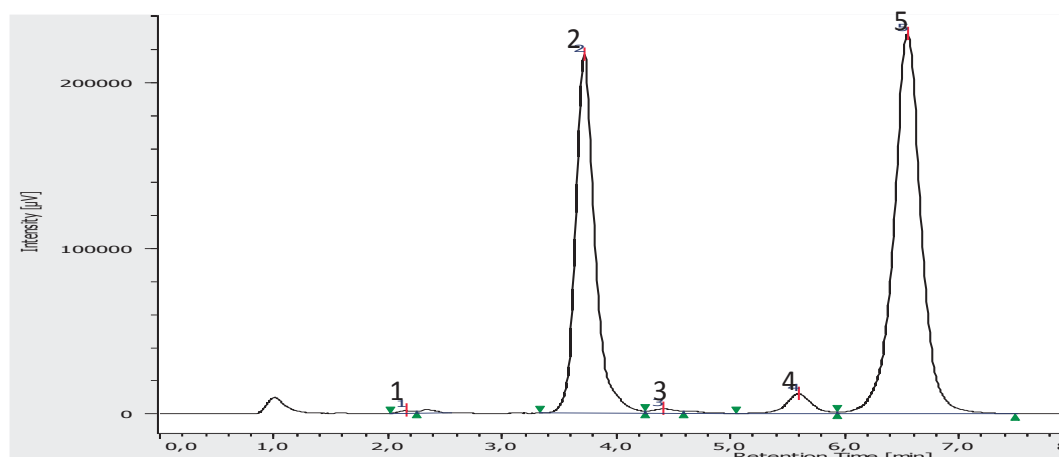


Figura 7. Cromatograma dos vitâmeros da vitamina E do miolo das sementes de baobab.

1- α -tocoferol; 2- γ -tocoferol; 3- γ -tocotrienol; 4- δ -tocoferol; 5- Padrão interno.

Tal como era expectável, a polpa do baobab não contém grande quantidade de vitamina E (0,42 mg/ 100 g), sendo o α -tocoferol e β -tocoferol os únicos vitâmeros quantificados nesta amostra. A isoforma γ -tocoferol foi detetada apenas no miolo das sementes, sendo o vitâmero em maior quantidade (34,38 mg/ 100 g; Tabela 4 e Figura 7). Por outro lado, o β -tocoferol está apenas presente na polpa do fruto (0,06 mg/ 100 g) e o δ -tocoferol apenas no miolo das sementes (2,59 mg/ 100 g). Relativamente aos tocotrienóis, o α -, β - e δ -tocotrienol não foram identificados em ambas as amostras, sendo apenas possível detetar γ -tocotrienol (1,41 mg/ 100 g) no miolo das sementes.

O miolo da semente foi o que revelou um maior teor total em vitamina E (38,64 mg/ 100 g), sendo este teor bastante superior ao do trigo (2,76 a 7,97 mg/ 100 g) [133] e às sementes de algumas espécies de quinoa (3,75 a 5,98 mg/ 100g) [134]. A vitamina E é facilmente encontrada em alimentos com elevados teores de lípidos, e algumas evidências sugerem que esta vitamina previne ou minimiza o dano causado pelos radicais livres associados a algumas doenças específicas, tais como o cancro, artrite, cataratas e envelhecimento [135,136]. Evidências recentes sugerem que a vitamina E reduz a doença de Alzheimer e a demência [137,138] e que possui ação neuroprotetora contra a neurotoxicidade periférica provocada pela cisplatina [139].

4.4. Vitamina C da polpa

Na determinação do teor de vitamina C das amostras em estudo verificou-se a inexistência da mesma no miolo das sementes do baobab. A Tabela 5 apresenta os teores de ácido ascórbico e ácido desidroascórbico presente na polpa do fruto e a Figura 8 permite a visualização do cromatograma obtido.

Tabela 5. Teor de vitamina C (ácido ascórbico e desidroascórbico) na polpa de baobab.

Polpa	Quantidade (mg/ 100 g)
Vitamina C (total)	26,1 ± 0,58
Ácido ascórbico	22,8 ± 0,36
Ácido desidroascórbico	3,33 ± 0,52

Os valores são expressos em média ± desvio padrão (n=3).

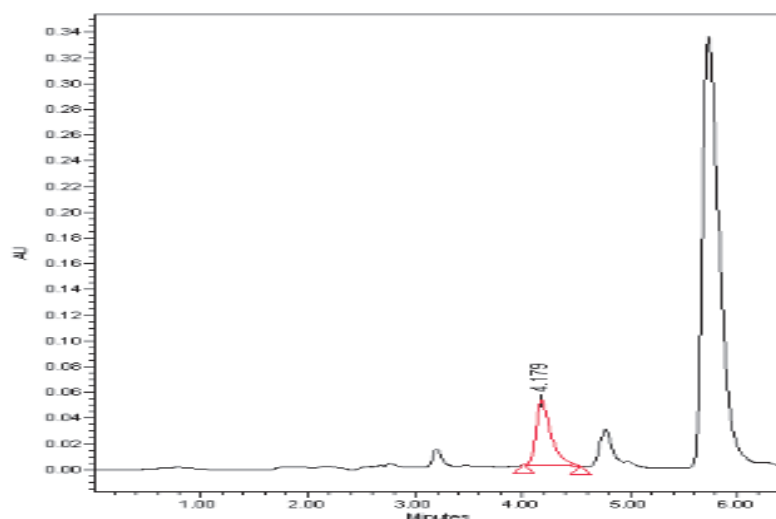


Figura 8. Cromatograma da análise da vitamina C. A vermelho encontra-se o pico correspondente ao ácido ascórbico.

Foi obtida uma concentração de 26,1 mg/ 100 g de vitamina C total, estando a maioria na forma ativa de ácido L-ascórbico (22,8 mg/ 100 g) e o restante na forma de ácido desidroascórbico (3,33 mg/ 100 g). Os resultados obtidos não foram concordantes com a maioria dos estudos publicados até à data, uma vez que os mesmos apontam para valores superiores a 150 mg/ 100 g. Umoh (1988) citado em Nnam e Obiakor (2003) [55] relatou uma quantidade de ácido ascórbico bastante superior (373 mg / 100 g) mais do que seis vezes o teor de vitamina C presente nos citrinos (30-50 mg / 100 g). Besco *et al.*

(2007) [45] documentaram um teor de ácido ascórbico variável, compreendido entre 150-499 mg / 100 g em frutas da *A. digitata* L.

Curiosamente, Scheuring *et al.* (1999) [140] descreveram uma variabilidade notável no teor de vitamina C presente na polpa do fruto (1500-5000 mg / kg), afirmando que a vitamina C apresentava estabilidade considerável durante um período de armazenamento de um ano. Estes dados inviabilizam uma das possíveis suposições sobre o baixo teor de vitamina C presente na nossa amostra, a qual esteve armazenada durante 1 ano. No entanto, os valores obtidos (cerca de metade de uma laranja) mostram-se promissores, na medida em que o teor presente na amostra era maioritariamente sob a forma ativa da vitamina C.

O ácido ascórbico tem uma elevada capacidade de estabilizar os radicais livres formados pela ação do oxigénio, que podem causar danos nas células [71]. Esta propriedade justifica o seu uso como aditivo alimentar, desempenhando um papel importante na preservação de nutrientes e no aumento da sua validade.

4.5. Determinação do teor de clorofilas e carotenoides

Os carotenoides são responsáveis pelas cores brilhantes das plantas juntamente com os compostos fenólicos [141] e estes são já conhecidos pelos seus efeitos benéficos na saúde humana, incluindo a diminuição do risco de várias doenças, principalmente as associadas com cancro e com a visão [142]. A sua principal atividade biológica, tal como as clorofilas, é a atividade antioxidante [143,144]. As clorofilas têm, também, efeitos reportados na saúde humana, destacando-se, entre eles, a proteção contra neoplasias, tendo estas efeitos antimutagénicos.

Na Tabela 6 estão apresentados os valores dos teores de carotenos (β -caroteno e licopeno) e clorofilas (*a* e *b*) das amostras.

Tabela 6. Valores dos pigmentos presentes na polpa e no miolo das sementes de baobab (mg/ g).

	Clorofila a	Clorofila b	β -caroteno	Licopeno
Polpa	1,07 \pm 0,05	1,75 \pm 0,10	ND	0,56 \pm 0,03
Miolo	0,92 \pm 0,10	1,48 \pm 0,18	ND	0,49 \pm 0,06

Os valores são expressos em média \pm desvio padrão em mg/ g de amostra (n=3)
ND - não detetado

De acordo com os resultados, observou-se a presença da clorofila *a*, clorofila *b* e licopeno. O β -caroteno não foi detetado em ambas as amostras. O perfil quantitativo mostrou-se concordante para a polpa e miolo das sementes, com teores superiores de clorofila *b*, seguida da clorofila *a* e licopeno, respetivamente.

Poucos estudos abordam estes pigmentos no fruto do baobab. No entanto, Sena *et al.* (1998) [145] reportaram níveis detetáveis de α -caroteno (0,17 $\mu\text{g/g}$) e luteína (1,53 $\mu\text{g/g}$) no fruto do baobab.

4.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante

Os antioxidantes têm um papel crucial na prevenção da oxidação de substâncias celulares essenciais para a vida dos humanos. Os antioxidantes sintéticos como o 2 ou 3-*terc*-butil-4-hidroxianisol (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT), apesar de prevenirem danos oxidativos celulares, têm efeitos adversos na saúde humana [146]. Aumenta assim a importância da procura de recursos naturais, ricos em compostos bioativos com atividade antioxidante, capazes de prevenir a oxidação dos alimentos, medicamentos e cosméticos mas também na prevenção de doenças como cancro, doenças inflamatórias, cardiovasculares, neurodegenerativas e autoimunes, nas quais, as espécies reativas de oxigénio estão envolvidas [147].

4.6.1. Determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais

Os compostos fenólicos são um dos grupos mais importantes a contribuir para a atividade antioxidante, são também responsáveis por diversas características sensoriais dos alimentos como a cor, sabor e aroma [148].

Os valores obtidos de fenólicos e flavonoides totais estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Teor de fenólicos e flavonóides totais obtidos na polpa e do miolo das sementes do fruto do baobab.

	Fenólicos totais (mg EAG/ g)	Flavonoides totais (mg EC/ g)
Polpa	117,8 \pm 2,38	23,29 \pm 0,28
Miolo	0,87 \pm 0,04	0,19 \pm 0,00

Os valores são expressos através da média \pm desvio padrão (n=3)

Pela análise dos resultados verifica-se que a polpa do fruto apresenta teores de compostos bioativos (fenólicos e flavonoides) significativamente superiores ao miolo das sementes. Também foi observado em ambas as amostras superioridade no teor de fenólicos em detrimento dos flavonoides. O teor de fenólicos totais presentes na polpa (117,8 mg EAG/ g) mostrou-se significativamente superior aos valores descritos por outros autores, cujos valores variaram entre 21,85 e 28,85 mg EAG/ g, em frutos provenientes de outras áreas geográficas [69]. Cisse *et al.* (2008) [87] obtiveram teores de fenólicos totais muito inferiores (10,85 mg EAG/ g) na polpa do fruto da mesma espécie, proveniente do Senegal. Também num outro estudo, Nhukarume *et al.* (2008) [71] mostraram que o teor fenólico presente na polpa do baobab (~52 mg / 100 ml GAE) não era estatisticamente diferente do obtido na laranja (*Citrus sinensis*), sugerindo o uso de polpa deste fruto como um suplemento dietético face às suas propriedades antioxidantes.

Estes dados comprovam a necessidade de estudar exaustivamente os frutos da espécie, quando sujeitos a diferentes condições edafo-climáticas, as quais influenciam o metabolismo secundário das plantas.

Relativamente ao teor de flavonoides, a polpa apresentou uma quantidade significativamente superior à do miolo das sementes (23,29 e 0,19 mg EC/ g, respetivamente), o que manifestamente está de acordo com outros trabalhos publicados. Cita-se como exemplo, o trabalho publicado por Lamien-Meda *et al.* (2008) [18], os quais relataram teores de flavonoides totais de 31,70 e 42,73 mg EC/ g, em extratos da polpa do fruto, recorrendo ao metanol e acetona como solventes, respetivamente. Mais recentemente, Brady (2011) [28] quantificou um teor de 14,42 mg EC/ g em extratos aquosos da polpa. Existem vários fatores que interferem na quantificação dos compostos bioativos, incluindo a espécie, as condições edafo-climáticas, a natureza do solvente e condições de extração. Para além disso, muitos investigadores têm observado uma diminuição dos teores de fenólicos e de flavonoides durante o processo de desenvolvimento/ maturação da planta [149,150]. Estas alterações podem ser, sobretudo, devido ao rápido crescimento dos tecidos vegetais no início da época, que conduz a um efeito de diluição e conseqüente perda dos compostos bioativos.

4.6.2. Determinação da atividade antioxidante

Os compostos bioativos com capacidade antioxidante, naturalmente presentes nas plantas, têm despertado interesse devido aos seus efeitos benéficos para a saúde de quem os consome. Estes efeitos são o resultado da proteção contra os radicais livres que se formam no organismo e que podem causar doenças graves. Desta forma, as células humanas estão dependentes destes antioxidantes para as protegerem destes radicais, maioritariamente resultantes da via aeróbia das células que formam espécies reativas de oxigénio.

Como já referido em 1.4.1. é necessário a utilização de mais do que um método para a determinação da capacidade antioxidante. Desta forma, recorreu-se a dois métodos espectrofotométricos para a avaliação da atividade antioxidante das amostras de baobab. Na Tabela 8 encontram-se os resultados obtidos.

Tabela 8. Atividade antioxidante da polpa e do miolo das sementes de baobab.

	DPPH (% inibição)	FRAP ($\mu\text{mol Fe II/ g}$)
Polpa do fruto	59,20 \pm 0,57	33,1 \pm 0,1
Miolo semente	28,63 \pm 0,71	1,0 \pm 0,0

Os valores são expressos através da média \pm desvio padrão (n=3)

Neste estudo, a atividade antioxidante da polpa mostrou-se elevada para uma concentração de extrato de 1 mg/ mL em ambos os métodos usados, tendo-se registado um valor de 59,20 % de inibição e de 33,1 $\mu\text{mol Fe (II)/ g}$, nos métodos DPPH e FRAP, respetivamente.

Quanto ao miolo, este apresentou uma atividade antioxidante significativamente mais baixa do que a polpa, mesmo nos extratos de 1 mg/ mL com 28,63 % de inibição e 1,0 $\mu\text{mol Fe (II)/ g}$ (DPPH e FRAP, respetivamente).

A elevada atividade antioxidante da polpa é concordante com resultados publicados por Dzoyem *et al.* (2014) [70]. Os elevados valores de FRAP obtidos são corroborados pelos resultados obtidos por outros autores [28,70].

Não foram encontrados estudos relativos à atividade antioxidante do miolo da semente isolado, pelo que este estudo poderá ser pioneiro. Sendo os valores encontrados inferiores aos da polpa, não deixa de ser importante a realização de estudos *in vivo*, além dos *in vitro*, para uma melhor compreensão desta atividade biológica na

saúde humana. Estes estudos *in vivo* são também importantes para se realizar na polpa, pois apesar da capacidade antioxidante nestes ensaios ser elevada, os radicais usados para a sua determinação não se encontram nem nos alimentos nem no organismo humano sendo apenas indicadores das suas potenciais propriedades.

5. CONCLUSÃO

O valor nutricional da polpa de baobab, elevado teor de fibras dietéticas e hidratos de carbono e baixo teor de gordura e proteína, confere propriedades saciantes fazendo dela um bom suplemento para uma dieta saudável. De destacar também o teor de vitamina C na sua forma ativa, juntamente com um elevado teor de compostos bioativos com atividade antioxidante, principalmente fenólicos, o que confere uma vasta panóplia de efeitos benéficos para a saúde.

Quanto ao valor nutricional do miolo das sementes de baobab, com elevados teores de gordura e proteína, as suas principais aplicações terão como base o seu óleo. Este contém um perfil adequado de ácidos gordos com elevados teores de ácido oleico e linoleico que, juntamente com a vitamina E, pode fazer do óleo um recurso com potencial de valorização.

Desta forma, a qualidade destas matrizes alimentares, com destaque para a polpa, sugere que estes produtos poderão ser usados para o desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentar, cosmética e farmacêutica, tendo sempre em conta os três pilares da sustentabilidade (ecologicamente correto, socialmente justo e economicamente viável). Isto poderá ajudar as populações mais pobres de África na sua nutrição e desenvolvimento, assim como ser um recurso alternativo e sustentável para o mundo ocidental.

5.1. Perspetivas de trabalho futuro

Considerando os resultados obtidos, será recomendável a confirmação e o estudo dos elevados teores hidratos de carbono e das fibras da polpa de baobab. Quanto ao miolo das sementes será importante uma análise mais pormenorizada do óleo para avaliar a sua viabilidade, e também do teor de aminoácidos devido ao elevado teor de proteínas.

É fundamental a realização de mais ensaios analíticos utilizando solventes não tóxicos, com a finalidade de caracterizar as propriedades nutricionais e biológicas do baobab, promovendo a sua divulgação com o objetivo de o valorizar e potenciar as suas aplicações em alimentação, cosmética e possível ação farmacológica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World population prospects: the 2015 revision, key findings and advance tables. Working paper No. ESA/P/WP.241; 2015.
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statistical Pocketbook 2015. Rome; 2015.
3. Sibbel A. The sustainability of functional foods. Soc Sci Med 2007 Feb; 64 (3): 554-61.
4. Spiertz H. Food production, crops and sustainability: restoring confidence in science and technology. Curr Opin Environ Sustain 2010 Dec; 2 (5): 439-43.
5. Reisch L, Eberle U, Lorek S. Sustainable food consumption: an overview of contemporary issues and policies. SSPP 2013 Jul; 9 (2): 7-25.
6. Gustavsson J, Cederberg C, Sonesson U, Van Otterdijk R, Meybeck A. Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome; 2011.
7. Bond AJ, Morrison-Saunders A. Re-evaluating sustainability assessment: aligning the vision and the practice. Environ Impact Assess Rev 2011 Jan; 31 (1): 1-7.
8. WCED. Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future; 1987.
9. Wognum PN, Bremmers H, Trienekens JH, van der Vorst JG, Bloemhof JM. Systems for sustainability and transparency of food supply chains—Current status and challenges. Adv Eng Inform 2011 Jan; 25 (1): 65-76.
10. Oosterveer P, Adjei BE, Vellema S, Slingerland M. Global sustainability standards and food security: Exploring unintended effects of voluntary certification in palm oil. Glob Food Sec 2014 Nov; 3 (3): 220-6.
11. World Summit on Food Security (WSFS). Declaration of the world summit on food security. Rome; 2009.
12. Braga N, Rodrigues F, PP Oliveira MB. *Castanea sativa* by-products: a review on added value and sustainable application. Nat Prod Res 2015 Sep; 29 (1): 1-18.

13. Costa AS, Alves RC, Vinha AF, Barreira SV, Nunes MA, Cunha LM, *et al.* Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Ind Crops Prod* 2014 Feb; 53: 350-7.
14. Sahraoui N, Vian MA, El Maataoui M, Boutekedjiret C, Chemat F. Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). *Innov Food Sci Emerg Technol* 2011 Apr; 12 (2): 163-70.
15. Baiano A. Recovery of biomolecules from food wastes—A review. *Molecules* 2014 Sep; 19 (9): 14821-42.
16. Plaza M, Cifuentes A, Ibáñez E. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends Food Sci Technol* 2008 Aug; 19 (1): 31-9.
17. Gebauer J, El-Siddig K, Ebert G. Baobab (*Adansonia digitata* L.): a review on a multipurpose tree with promising future in the Sudan. *Gartenbauwissenschaft* 2002 Jul; 67 (4): 155-60.
18. Lamien-Meda A, Lamien CE, Compaoré MM, Meda RN, Kiendrebeogo M, Zeba B, *et al.* Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules* 2008 Mar; 13 (3): 581-94.
19. Rahul J, Jain MK, Singh SP, Kamal RK, Naz A, Gupta AK, *et al.* *Adansonia digitata* L.(baobab): a review of traditional information and taxonomic description. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015 Jan; 5 (1): 79-84.
20. Sidibé M, Williams J. Fruits for the future. Baobab *Adansonia digitata* International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton; 2002.
21. Agência Angola Press. Símbolos Oficiais e Culturais. Disponível em: https://www.angop.ao/angola/pt_pt/portal/informacoes/angola/sobre-angola/2012/9/40/Simbolos-Oficiais-Culturais,6d58df3a-1d81-4b33-810b-9ac88cdb1dcb.html [acedido em 14/09/2016]
22. Kaboré D, Sawadogo-Lingani H, Diawara B, Compaoré CS, Dicko MH, Jakobsen M. A review of baobab (*Adansonia digitata*) products: Effect of processing techniques, medicinal properties and uses. *Afr J Food Sci* 2011 Dec; 5 (16): 833-44.
23. Shahat AA. Procyanidins from *Adansonia digitata*. *Pharm Biol* 2006 Apr; 44 (6): 445-50.

24. Sugandha S, Parasharami V, Shashi R. Medicinal uses of *Adansonia digitata* L.: an endangered tree species. JPSI 2013 May; 2: 14-6.
25. Wickens GE. The baobabs: pachycauls of Africa, Madagascar and Australia. 1st ed. Netherlands: Springer Science & Business Media; 2008.
26. Yusha'u M, Hamza M, Abdullahi N. Antibacterial activity of *Adansonia digitata* stem bark extracts on some clinical bacterial isolates. IJBHS 2010 Sep; 6 (3): 129-135.
27. Chadare F, Linnemann A, Hounhouigan J, Nout M, Van Boekel M. Baobab food products: a review on their composition and nutritional value. Crit Rev Food Sci Nutr 2008 Mar; 49 (3): 254-74.
28. Brady O. The characterisation and bioactivity determination of *Adansonia digitata* L. Baobab fruit pulp, for commercial product development [Bachelor of Science]. Ireland: Dublin Institute of Technology; 2011.
29. Namratha V, Sahithi P. Baobab: A Review about "The Tree of Life". IJAHST 2015 Aug; 1 (1): 20-6.
30. Venter SM, Witkowski ETF. Baobab (*Adansonia digitata* L.) density, size-class distribution and population trends between four land-use types in northern Venda, South Africa. For Ecol Manage 2010 Jan; 259 (3): 294-300.
31. Jama B, Mohamed A, Mulatya J, Njui A. Comparing the "Big Five": a framework for the sustainable management of indigenous fruit trees in the drylands of East and Central Africa. Ecol Indicators 2008 Mar; 8 (2): 170-9.
32. Mukadasi B, Nabalegwa M. Gender mainstreaming and community participation in plant resource conservation in Buzaya county, Kamuli district, Uganda. Afr J Ecol 2007 Feb; 45 (1): 7-12.
33. Robinson J. Useful wild tree resources of southern Sudan: a review. Plant Genet Resour C 2006 Mar; 4 (03): 188-97.
34. De Caluwé E, Halamová K, Van Damme P, editors. Baobab (*Adansonia digitata* L.): a review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. ACS Symposium Series, Oxford University Press; 2009.
35. Compaoré W, Nikiéma P, Bassolé H, Savadogo A, Mouecoucou J, Hounhouigan D, *et al.* Chemical composition and antioxidative properties of seeds of *Moringa oleifera*

and pulps of *Parkia biglobosa* and *Adansonia digitata* commonly used in food fortification in Burkina Faso. Res J Biol Sci 2011 Dec; 3 (1): 64-72.

36. Osman MA. Chemical and nutrient analysis of baobab (*Adansonia digitata*) fruit and seed protein solubility. Plant Foods Hum Nutr 2004 Jan; 59 (1): 29-33.

37. Gruenwald J. Novel botanical ingredients for beverages. Clin Dermatol 2009 Mar; 7 (2): 210-6.

38. Buchmann C, Prehlsler S, Hartl A, Vogl CR. The importance of baobab (*Adansonia digitata* L.) in rural West African subsistence—suggestion of a cautionary approach to international market export of baobab fruits. Ecol Food Nutr 2010 May; 49 (3): 145-72.

39. Baobab fruit approved as food ingredient in US. Disponível em: <http://www.nutraingredients-usa.com/Suppliers2/Baobab-fruit-approved-as-food-ingredient-in-US> [acedido em 14/09/2016]

40. PhytoTrade. Move over goji berries, here comes Baobab! Press release; 2008

41. Welford L, Breton GL. Bridging the gap: Phytotrader Africa's experience of the certification of natural products. For Trees Livelihoods 2008 Apr; 18 (1): 69-79.

42. Kamatou GPP, Vermaak I, Viljoen AM. An updated review of *Adansonia digitata*: A commercially important African tree. S Afr J Bot 2011 Oct; 77 (4): 908-19.

43. Soloviev P, DaoudaNiang T, Gaye A, Totte A. Variabilité des caractères physico-chimiques des fruits de trois espèces ligneuses de cueillette récoltés au Sénégal: *Adansonia digitata*, *Balanites aegyptiaca* et *Tamarindus indica*. Fruits 2004 Mar; 59 (2): 109-19.

44. Abdalla A, Mohammed M, Mudawi H. Production and quality assessment of instant baobab (*Adansonia digitata* L.). Adv J Food Sci Technol 2010 Mar; 2 (2): 125-33.

45. Besco E, Braccioli E, Vertuani S, Ziosi P, Brazzo F, Bruni R, *et al.* The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidant capacity of baobab products. Food Chem 2007 May; 102 (4): 1352-6.

46. Vertuani S, Braccioli E, Buzzoni V, Manfredini S. Antioxidant capacity of *Adansonia digitata* fruit pulp and leaves. Acta Phytother 2002; 2:2-7.

47. Manfredini S, Vertuani S, Buzzoni V. *Adansonia digitata*. Il Baobab Farmacista. Integr Nutr 2002; 5: 25-9.

48. Valente A, Albuquerque TG, Sanches-Silva A, Costa HS. Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Res Int* 2011 Aug; 44 (7): 2237-42.
49. Van De Velde F, Tarola AM, Güemes D, Pirovani ME. Bioactive compounds and antioxidant capacity of Camarosa and Selva strawberries (*Fragaria x ananassa Duch.*). *Foods* 2013 Mar; 2 (2): 120-31.
50. Delva L, Goodrich-Schneider R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata DC*) fruit. *Int J Food Sci Tech* 2013 Jan; 48 (5): 1048-56.
51. Assogbadjo AE, Chadare FJ, Kakaï RG, Fandohan B, Baidu-Forson JJ. Variation in biochemical composition of baobab (*Adansonia digitata*) pulp, leaves and seeds in relation to soil types and tree provenances. *Agric, Ecosyst Environ* 2012 Aug; 157 (0): 94-9.
52. Galil Hea. Evaluation of Baobab (Gonglase) solution for home management of diarrhoea in Sudanese children [dissertação]. Sudan: University of Khartoum; 1996.
53. Tal-Dia A, Toure K, Sarr O, Sarr M, Cisse M, Garnier P, *et al.* [A baobab solution for the prevention and treatment of acute dehydration in infantile diarrhea]. *Dakar Med* 1996; 42 (1): 68-73.
54. De Caluwé E, Halamová K, Van Damme P. *Adansonia digitata* L.: a review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Afrika focus* 2010 Dec; 23 (1): 11-51.
55. Nnam N, Obiakor P. Effect of fermentation on the nutrient and antinutrient composition of baobab (*Adansonia digitata*) seeds and rice (*Oryza sativa*) grains. *Ecol Food Nutr* 2003 Jun; 42 (4-5): 265-77.
56. Bamalli Z, Mohammed AS, Mohd Ghazali H, Karim R. Baobab tree (*Adansonia digitata* L) parts: nutrition, applications in food and uses in ethno-medicine-a review. *Anal Nutrition Disorder Ther* 2014 Sep; 1 (3): 1-9.
57. Addy EO, Salami LI, Igboeli LC, Remawa HS. Effect of processing on nutrient composition and anti-nutritive substances of African locust bean (*Parkia filicoidea*) and baobab seed (*Adansonia digitata*). *Plant Foods Hum Nutr* 1995 Sep; 48 (2): 113-7.

58. Glew RH, VanderJagt DJ, Lockett C, Grivetti LE, Smith GC, Pastuszyn A, *et al.* Amino acid, fatty acid, and mineral composition of 24 indigenous plants of Burkina Faso. *J Food Compost Anal* 1997 Sep; 10 (3): 205-17.
59. Murray SS, Schoeninger MJ, Bunn HT, Pickering TR, Marlett JA. Nutritional composition of some wild plant foods and honey used by Hadza foragers of Tanzania. *J Food Compost Anal* 2001 Feb; 14 (1): 3-13.
60. Wren S, Stucki A. Organic essential oils, indigenous cold pressed oils, herbs and spices in Sub-Saharan Africa. *Int J Aromather* 2003 Dec; 13 (2): 71-81.
61. Nkafamiya I, Osemeahon S, Dahiru D, Umaru H. Studies on the chemical composition and physicochemical properties of the seeds of baobab (*Adansonia digitata*). *Afr J Biotechnol* 2007 Mar; 6 (6): 756-59.
62. Nyam KL, Tan CP, Lai OM, Long K, Man YC. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. *LWT-Food Sci Technol* 2009 Oct; 42 (8): 1396-403.
63. Wasserman R. Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. *J Nutr* 2004 Nov; 134 (11): 3137-9.
64. Vermaak I, Kamatou GPP, Komane-Mofokeng B, Viljoen A, Beckett K. African seed oils of commercial importance—Cosmetic applications. *S Afr J Bot* 2011 Oct; 77 (4): 920-33.
65. Leonov A, Arlia-Ciommo A, Piano A, Svistkova V, Lutchman V, Medkour Y, *et al.* Longevity extension by phytochemicals. *Molecules* 2015 Apr; 20 (4): 6544-72.
66. Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. Phytochemistry of medicinal plants. *J Pharmacogn Phytochem* 2013 Feb; 1 (6): 237-43.
67. Muhammad A, Tel-Cayan G, Öztürk M, Nadeem S, Duru ME, Anis I, *et al.* Biologically active flavonoids from *Dodonaea viscosa* and their structure–activity relationships. *Ind Crops Prod* 2015 Dec; 78: 66-72.
68. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 1998 Feb; 75 (2): 199-212.
69. Coe SA, Clegg M, Armengol M, Ryan L. The polyphenol-rich baobab fruit (*Adansonia digitata* L.) reduces starch digestion and glycemic response in humans. *Nutr Res* 2013 Nov; 33 (11): 888-96.

70. Dzoyem JP, Kuete V, McGaw LJ, Eloff JN. The 15-lipoxygenase inhibitory, antioxidant, antimycobacterial activity and cytotoxicity of fourteen ethnomedicinally used African spices and culinary herbs. *J Ethnopharmacol* 2014 Oct; 156: 1-8.
71. Nhukarume L, Chikwambi Z, Muchuweti M, Chipurura B. Phenolic content and antioxidant capacities of *Parinari curatelifolia*, *Strychnos spinosa* and *Adansonia digitata*. *J Food Biochem* 2010 Mar; 34 (s1): 207-21.
72. Kennedy DO, Wightman EL. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Adv Nutr* 2011 Jan; 2 (1): 32-50.
73. Somani SJ, Modi KP, Majumdar AS, Sadarani BN. Phytochemicals and their potential usefulness in inflammatory bowel disease. *Phytother Res* 2015 Jan; 29 (3): 339-50.
74. Li N, Zhang P, Wu H, Wang J, Liu F, Wang W. Natural flavonoids function as chemopreventive agents from Gancao (*Glycyrrhiza inflata* Batal). *J Funct Foods* 2015 Dec; 19 (Part A): 563-74.
75. Testai L. Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. *Life Sci* 2015 Aug; 135: 68-76.
76. Zhang S, Cui Y, Li L, Li Y, Zhou P, Luo L, *et al.* Preparative HSCCC isolation of phloroglucinolysis products from grape seed polymeric proanthocyanidins as new powerful antioxidants. *Food Chem* 2015 Dec; 188: 422-9.
77. Cosmulescu S, Trandafir I. Seasonal variation of total phenols in leaves of walnut (*Juglans regia* L.). *J Med Plants Res* 2011 Jul; 5 (19): 4938-42.
78. Raal A, Orav A, Püssa T, Valner C, Malmiste B, Arak E. Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. *Food Chem* 2012 Mar; 131 (2): 632-8.
79. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ehteshamnia A, Nabavi SM, Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, *et al.* Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *J Med Plants Res* 2011 Apr; 5 (7): 1128-33.
80. Malá J, Cvikrová M, Hrubcová M, Máchová P. Influence of vegetation on phenolic acid contents in soil. *J For Sci* 2013; 59 (7): 288-94.

81. Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Soumaya B, *et al.* Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Sci Technol* 2010 May; 43 (4): 632-9.
82. Falleh H, Ksouri R, Lucchessi M-E, Abdelly C, Magné C. Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots. *Trop J Pharm Res* 2012 Apr; 11 (2): 243-9.
83. Gironi F, Piemonte V. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chem Eng Res Des* 2011 Jul; 89 (7): 857-62.
84. Mahugo Santana C, Sosa Ferrera Z, Esther Torres Padrón M, Juan Santana Rodríguez J. Methodologies for the extraction of phenolic compounds from environmental samples: new approaches. *Molecules* 2009 Jan; 14 (1): 298-320.
85. Tan P, Tan CP, Ho CW. Antioxidant properties: Effects of solid-to-solvent ratio on antioxidant compounds and capacities of Pegaga (*Centella asiatica*). *Int Food Res J* 2011 Jan; 18 (2): 557-62.
86. Sundarambal M, Muthusamy P, Radha R, Jerad Suresh A. A review on *Adansonia digitata* Linn. *J Pharmacogn Phytochem* 2015 Jan; 4 (4): 12-6.
87. Cisse M, Sakho M, Dornier M, Diop CM, Reynes M, Sock O. Characterization of the baobab tree fruit and study of its processing into nectar. *Fruits (Paris)* 2009 Jan; 64 (1): 19-34.
88. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 2003 Dec; 51 (25): 7292-5.
89. Shukla Y, Dubey S, Jain S, Kumar S. Chemistry, biology and uses of *Adansonia digitata*-a review. *JMAPS* 2001 Jan; 23: 429-34.
90. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 2002 Oct; 127 (1): 183-98.
91. Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric* 2000 Aug; 80 (13): 1925-41.

92. Zulueta A, Esteve MJ, Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem* 2009 May; 114 (1): 310-6.
93. Afolabi OR, Popoola TOS. The effects of baobab pulp powder on the micro flora involved in tempe fermentation. *Eur Food Res Technol* 2005 Feb; 220 (2): 187-90.
94. Yagoub S. Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* and *Adansonia digitata* extracts against *E. coli* isolated from urine and water specimens. *Res J Microbiol* 2008 Jan; 3 (3): 193-7.
95. Selvarani V. Multiple inflammatory and antiviral activities in *Adansonia digitata* (Baobab) leaves, fruits and seeds. *J Med Plants Res* 2009 Aug; 3 (8): 576-82.
96. Elsaid FG. The Effect of Seeds and Fruit Pulp of *Adansonia digitata* L.(Baobab) on Ehrlich Ascites Carcinoma. *Food Nutr Sci* 2013 Apr; 4: 38-46.
97. Al-Qarawi AA, Al-Damegh MA, El-Mougy SA. Hepatoprotective influence of *Adansonia digitata* pulp. *J Herbs Spices Med Plants* 2003 May; 10 (3): 1-6.
98. Ramadan A, Harraz F, El-Mougy S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of the fruit pulp of *Adansonia digitata*. *Fitoterapia* 1994 Dec; 65: 418-422.
99. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC 920.153 International (19th ed.); 2012.
100. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC 948.22 International (19th ed.); 2012.
101. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC 928.08 International (19th ed.); 2012.
102. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Energy - methods of analysis and conversion factors. Rome; 2003.
103. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC 928.08 International (19th ed.); 2012.
104. ISO 12966-2:2011. Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids; 2011.
105. Alves R, Casal S, Oliveira MBP. Determination of vitamin E in coffee beans by HPLC using a micro-extraction method. *Food Sci Technol Int* 2009 Jan; 15 (1): 57-63.
106. Araújo M, Alves RC, Pimentel FB, Costa AS, Fernandes TJ, Valente LM, *et al.* New approach for vitamin E extraction in rainbow trout flesh: Application in fish fed commercial and red seaweed-supplemented diets. *Eur J Lipid Sci Technol* 2015 Jun; 117 (9): 1398-405.

107. Nagata M, Yamashita I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J Japan Soc Food Sci Technol* 1992 Mar; 39 (10): 925-28.
108. Moure A, Conde E, Falqué E, Domínguez H, Parajó JC. Production of nutraceuticals from chestnut burs by hydrolytic treatment. *Food Res Int* 2014 Nov; 65: 359-66.
109. MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J Sci Food Agric* 2006 Aug; 86 (13): 2046-56.
110. Lin J-Y, Tang C-Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem* 2007 Dec; 101 (1): 140-7.
111. Valgimigli L, Pratt DA. Antioxidants in chemistry and biology. *Encyclopedia of radicals in chemistry, biology and materials*. 2012.
112. Rodrigues F, Palmeira-de-Oliveira A, das Neves J, Sarmiento B, Amaral MH, Oliveira MB. *Medicago spp.* extracts as promising ingredients for skin care products. *Ind Crops Prod* 2013 Aug; 49: 634-44.
113. Benzie IF, Strain J. [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 1999 Feb; 299: 15-27.
114. Parkouda C, Diawara B, Lowor S, Diako C, Saalia FK, Annan NT, *et al.* Volatile compounds of maari, a fermented product from baobab (*Adansonia digitata* L.) seeds. *Afr J Biotechnol* 2013 May; 10 (20): 4197-206.
115. Mæhre HK, Malde MK, Eilertsen KE, Elvevoll EO. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *J Sci Food Agric* 2014 Dec; 94 (15): 3281-90.
116. Möller NP, Scholz-Ahrens KE, Roos N, Schrezenmeir J. Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur J Nutr* 2008 Jun; 47 (4): 171-82.
117. Becker E. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnol Adv* 2007 Mar; 25 (2): 207-10.

118. Tal-Dia A, Toure K, Sarr O, Sarr M, Cisse M, Garnier P, *et al.* [A baobab solution for the prevention and treatment of acute dehydration in infantile diarrhea]. *Dakar Med* 1996 Feb; 42 (1): 68-73.
119. Akoh CC, Min DB. editors. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*. 3rd ed. New York: CRC press; 2008.
120. United States Department of Agriculture. *Composition of Foods Raw, Processed, Prepared, Agriculture Handbook*. 8-9th ed. Washington D.C.: U.S. Department of Agriculture; 1982.
121. Rolim PM. Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Sci Technol* 2015 Mar; 35 (1): 3-10.
122. Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* 2013 Apr; 5 (4): 1417-35.
123. Sousa VMC, Santos EF, Sgarbieri VC. The importance of prebiotics in functional foods and clinical practice. *Food Nutr Sci* 2011 Mar; 2: 133-144.
124. Lopez-Huertas E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacol Res* 2010 Mar; 61 (3): 200-7.
125. Sales-Campos H, Reis de Souza P, Crema Peghini B, Santana da Silva J, Ribeiro Cardoso C. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini Rev Med Chem* 2013 Feb; 13 (2): 201-10.
126. Calder P, Grimble R. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur J Clin Nutr* 2002 Aug; 56 (3): S14-S9.
127. Tešević V, Vajs V, Lekić S, Đorđević I, Novaković M, Vujisić L, *et al.* Lipid composition and antioxidant activities of the seed oil from three Malvaceae species. *Arch Biol Sci Belgrade* 2012; 64 (1): 221-7.
128. Cao J, Blond J-P, Bézard J. Inhibition of fatty acid Δ 6- and Δ 5-desaturation by cyclopropene fatty acids in rat liver microsomes. *BBA-Lipid Lipid Met* 1993 Jan; 1210 (1): 27-34.
129. Bao X, Katz S, Pollard M, Ohlrogge J. Carbocyclic fatty acids in plants: Biochemical and molecular genetic characterization of cyclopropane fatty acid synthesis of *Sterculia foetida*. *Proc Natl Acad Sci* 2002 May; 99 (10): 7172-7.

130. Farhan H, Rammal H, Hijazi A, Badran B. Preliminary phytochemical screening and extraction of polyphenol from stems and leaves of a Lebanese plant *Malva parviflora* L. *Int J Curr Pharm Res* 2012 Jan; 4 (1): 55-9.
131. Bartosińska E, Buszewska-Forajta M, Siluk D. GC–MS and LC–MS approaches for determination of tocopherols and tocotrienols in biological and food matrices. *J Pharm Biomed Anal* 2016 Aug; 127: 156-69
132. Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chem Phys Lipids* 2003 Mar; 123 (1): 63-75.
133. Lampi AM, Nurmi T, Ollilainen V, Piironen V. Tocopherols and tocotrienols in wheat genotypes in the Healthgrain diversity screen. *J Agric Food Chem* 2008 Nov; 56 (21): 9716-21.
134. Tang Y, Li X, Chen PX, Zhang B, Hernandez M, Zhang H, *et al.* Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chem* 2015 Nov; 174: 502-8.
135. Heinonen OP, Koss L, Albanes D, Taylor PR, Hartman AM, Edwards BK, *et al.* Prostate cancer and supplementation with α -tocopherol and β -carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 1998 Mar; 90 (6): 440-6.
136. Morrissey PA, Buckley DJ, Sheehy P, Monahan F. Vitamin E and meat quality. *Proc Nutr Soc* 1994 Jul; 53 (02): 289-95.
137. Devore EE, Grodstein F, van Rooij FJ, Hofman A, Stampfer MJ, Witteman JC, *et al.* Dietary antioxidants and long-term risk of dementia. *Arch Neurol* 2010 Jul; 67 (7): 819-25.
138. Mangialasche F, Kivipelto M, Mecocci P, Rizzuto D, Palmer K, Winblad B, *et al.* High plasma levels of vitamin E forms and reduced Alzheimer's disease risk in advanced age. *J Alzheimer's Dis* 2010 Jan; 20 (4): 1029-37.
139. Pace A, Giannarelli D, Galiè E, Savarese A, Carpano S, Della Giulia M, *et al.* Vitamin E neuroprotection for cisplatin neuropathy A randomized, placebo-controlled trial. *Neurology* 2010 Mar; 74 (9): 762-6.
140. Scheuring J, Sidibé M, Frigg M. Malian agronomic research identifies local baobab tree as source of vitamin A and vitamin C. *Sight Life Mag* 1999; 1: 21-4.

141. Popović BM, Štajner D, Ždero R, Orlović S, Galić Z. Antioxidant characterization of oak extracts combining spectrophotometric assays and chemometrics. *Scientific World J* 2013 Sep; 2013.
142. Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 2005 Dec; 26 (6): 459-516.
143. İnanç AL. Chlorophyll: structural properties, health benefits and its occurrence in virgin olive oils. *Akademik Gıda* 2011 Apr; 9 (2): 26-32.
144. Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *BBA-Mol Basis Dis* 2005 May; 1740 (2): 101-7.
145. Sena L, Vanderjagt D, Rivera C, Tsin A, Muhamadu I, Mahamadou O, *et al.* Analysis of nutritional components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods Hum Nutr* 1998 Feb; 52 (1): 17-30.
146. Wu Y, Hui D, Eskin N, Cui S. Water-soluble yellow mustard mucilage: A novel ingredient with potent antioxidant properties. *Int J Biol Macromol* 2016 Oct; 91: 710-5.
147. Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JL. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal Chim Acta* 2008 Apr; 613 (1): 1-19.
148. Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal* 2013 May; 18 (14): 1818-92.
149. Kulkarni AP, Aradhya SM. Chemical changes and antioxidant activity in *pomegranate arils* during fruit development. *Food Chem* 2005 Nov; 93 (2): 319-24.
150. Towler MJ, Weathers PJ. Variations in key artemisinin and other metabolites throughout plant development in *Artemisia annua* L. for potential therapeutic use. *Ind Crops Prod* 2015 May; 67: 185-91.